

β -CAROTIN UND VITAMIN A
IN BLUT UND MILCH DES RINDES
NACH PARENTERALER UND ORALER
APPLIKATION VON β -CAROTIN

Wolfgang Eisele

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

**B-CAROTIN UND VITAMIN A IN BLUT UND MILCH DES RINDES NACH
PARENTERALER UND ORALER APPLIKATION VON β -CAROTIN**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wolfgang Eisele
aus
Kempten/Allgäu

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Prof. Dr. W. Rössner

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

INHALTSÜBERSICHT

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2	LITERATUROBERSICHT	2
2.1	β -Carotin	2
2.1.1	Körperbestand an β -Carotin	3
2.1.2	Transport im Organismus	5
2.1.3	β -Carotin als Vitamin A-Vorstufe	7
2.1.4	Lipophile Bestandteile der Milch	8
2.1.4.1	β -Carotin in der Milch	8
2.1.4.2	Sekretion der Milchlipide	10
2.1.5	Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes	12
2.1.6	Wirkung in der Tumorabwehr und als Schutz vor Strahlenschäden	15
2.2	Lipoproteine	18
2.2.1	Chylomikronen	18
2.2.2	Very Low Density Lipoproteine (VLDL)	19
2.2.3	Low Density Lipoproteine (LDL)	21
2.2.4	High Density Lipoproteine (HDL)	21
2.2.5	Stoffwechsel der Lipoproteine	22
2.2.6	Beitrag der Lipoproteine zur Milchfettbildung	24

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3	MATERIAL UND METHODEN	26
3.1	Tiere	26
3.2	β -Carotin-Präparate	28
3.3	Probennahme und Probenkonservierung	28
3.4	Auftrennung der Serumlipoproteine	29
3.4.1	VLDL/LDL-Darstellung	30
3.4.2	VLDL-Darstellung	32
3.4.3	Darstellung aller Lipoproteine (VLDL+LDL+HDL)	33
3.5	Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A im Serum und seinen Fraktionen	35
3.6	Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A in der Milch	36
3.7	Berechnung der Konzentrationen	36
4	VERSUCHSANORDNUNG UND ERGEBNISSE	38
4.1	Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteine beim Jungrind (Versuch I)	38
4.1.1	Versuchsanordnung	38
4.1.2	Ergebnisse	38

4.2	Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach intramuskulärer Applikation von β -Carotin (Versuch II)	40
4.2.1	Versuchsanordnung	40
4.2.2	Ergebnisse	40
4.3	Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach intravenöser Applikation von β -Carotin (Versuch III)	45
4.3.1	Versuchsanordnung	45
4.3.2	Ergebnisse	45
4.4	Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach Gabe von β -Carotin über eine Duodenalfistel (Versuch IV)	50
4.4.1	Versuchsanordnung	50
4.4.2	Ergebnisse	50
4.5	Verlauf der β -Carotin- und Vitamin A-Spiegel in Blut und Milch nach Gabe von β -Carotin per os (Versuch V)	52
4.5.1	Versuchsanordnung	52
4.5.2	Ergebnisse	52
4.6	Verlauf der Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteine in vitro (Versuch VI)	55
4.6.1	Versuchsanordnung	55
4.6.2	Ergebnisse	55

5	DISKUSSION	58
5.1	Zeitlicher Verlauf der β -Carotin-Spiegel in Blut und Milch	58
5.2	Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfraktionen	62
5.2.1	Verteilung beim laktierenden Rind	62
5.2.2	Verteilung beim Jungrind	63
5.2.3	Zeitlicher Verlauf der Verteilung nach Applikation von β -Carotin parenteral und in vitro	65
5.3	Zeitlicher Verlauf der Vitamin A-Spiegel in Blut und Milch	68
5.4	Schlußfolgerung	72
6	ZUSAMMENFASSUNG	73
	SUMMARY	75
7	LITERATURVERZEICHNIS	77

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Seit den 50er Jahren (BRÜGGEMANN & NIESAR, 1957) wird im veterinärmedizinischen Bereich die Bedeutung und Wirkung von β -Carotin im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes untersucht. Aus humanmedizinischer Sicht ist die mögliche Beteiligung des β -Carotins im Geschehen der Tumorabwehr durch Forschungsergebnisse der letzten Jahre interessant geworden (PETO et al., 1981).

Zum Transport im Organismus wird β -Carotin nach einem bestimmten Verteilungsmuster an die Lipoproteinklassen gebunden. Diese Bindung kann eine Rolle bei der Aufnahme und lokalen Nutzung von β -Carotin durch die Gewebe spielen.

Ziel dieser Arbeit war es zu klären, wie sich eine parenterale Applikation von β -Carotin auf die Verteilung zwischen den Lipoproteinfractionen auswirkt. Außerdem galt es, die Verfügbarkeit des parenteral applizierten β -Carotins zu prüfen. Hierbei erschien die β -Carotin-Ausscheidung in der Milch als geeigneter Parameter um festzustellen, ob das Rind in der Lage ist, β -Carotin auch dann zu nutzen, wenn seine Aufnahme nicht über den physiologischen Weg der Darmresorption erfolgt.

Aufgrund der möglichen Nutzung von β -Carotin als Provitamin A, sollte die Auswirkung der parenteralen Applikation auch hinsichtlich des Vitamin A-Haushaltes untersucht werden.



2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 β -Carotin

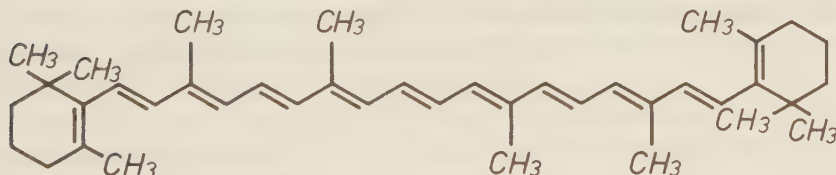
Carotinoide spielen, als sogenannte akzessorische Pigmente, in Pflanzen eine wichtige Rolle im Photosyntheseprozess. Ihre Fähigkeit Strahlungsenergie aufzunehmen und auf die eigentlichen Photosynthesepigmente zu übertragen, sowie ihre Bedeutung als farbgebender Bestandteil von Blüten und Früchten erklären ihre weite Verbreitung in der Pflanzenwelt.

Es können zwei Gruppen von Carotinoiden unterschieden werden: Die gelb bis braun gefärbten sauerstoffhaltigen Xanthophylle und die Carotine, die nur aus Kohlen- und Wasserstoff bestehen und rote bis orange Farbe haben (KATING & BRECKLE, 1978; KRINSKY & DENEKE, 1982).

Säugetiere sind zur gezielten Bildung bestimmter Carotinoide weder durch de novo-Synthese in der Lage, noch durch Transformation exogen präformierter Moleküle, eine Fähigkeit, die fast alle anderen Lebewesen besitzen. Säuger können jedoch aus Carotinoiden geeigneter Molekularstruktur Vitamin A bilden. Grundsätzlich lassen sich die Säugetiere hinsichtlich ihres Umgehens mit Carotinoiden in drei Gruppen einteilen. Die erste Säugergruppe, zu der Hund, Katze, Ratte, Schwein, Schaf und Ziege zählen, nimmt Carotinoide höchstens in Spuren in den Organismus auf oder wandelt sie noch in der Darmwand vollständig zu Vitamin A um. Diese Tiere besitzen aufgrund des Mangels an diesem Pigment auffallend weißes Körperfett.

Die beiden anderen Gruppen akkumulieren Carotinoide im Gewebe, wobei der Mensch sowohl Carotine als auch Xantophylle gleichermaßen aufnimmt, entsprechend dem Angebot in der Nahrung. Zur dritten Gruppe, die fast ausschließlich Carotin in Blut und Gewebe aufweist, gehört neben dem Pferd auch das Rind. In den Futterpflanzen des Rindes stellt β -Carotin 90-95 % des Carotingehaltes (TIEWS, 1961; GOODWIN, 1984). Abgesehen von seiner Rolle als Provitamin, scheint das β -Carotin wichtige Funktionen im Organismus zu erfüllen.

Abb. 1: Strukturformel des β -Carotin-Moleküls



2.1.1 Körperbestand an β -Carotin

Das mengenmäßig bedeutsamste β -Carotin-Depot im Körper stellt das Blutplasma dar, gefolgt von Leber- und Fettgewebe (FRIESECKE, 1978). Die höchsten Konzentrationen werden jedoch im Corpus luteum erreicht. AHLSEDE und LOTTHAMMER (1978) erzielten in einem β -Carotin-Fütterungsversuch folgende Vergleichsdaten: 0,91 μg β -Carotin je Gramm Lebergewebe zu 16,25 μg je Gramm Gelbkörpergewebe.

Abhängig ist der Körperbestand vor allem von der Zufuhr über die Nahrung. Dies führt beim Rind zu deutlichen jahreszeitlichen Schwankungen des Serumspiegels, da im Frischfutter von Sommer und Herbst deutlich mehr β -Carotin enthalten ist. Im Sommer liegen die β -Carotin-Konzentrationen im Serum dementsprechend um ein Vielfaches über denen des Winters (SUTTON & SOLDNER, 1945; KURZ et al., 1984). Allerdings steigt die tatsächlich resorbierte Menge mit zunehmender Zufuhr nicht proportional an. So erreichten BURGSTALLER et al., (1980) mit einer vierfachen zugefütterten Menge β -Carotin nur eine Erhöhung des Blutspiegels um 33 % gegenüber einer Kontrollgruppe. Ebenso verhält es sich mit der Bildung von Vitamin A aus β -Carotin. Auch hier wird die relative Ausbeute, mit steigender Zufuhr von β -Carotin, geringer (TIEWS, 1961). Die Resorptionsleistung des Darmes scheint auch vom Thyroxin-Blutstatus des Individuums abzuhängen: Injektion von Thyroxin steigert beim Rind die Aufnahme von β -Carotin (OWEN, 1965).

Der Resorptionsmodus am Darm ist bislang nicht aufgeklärt. HOLLANDER und RUBLE (1978) schließen aus ihren Versuchen an Rattendünndärmen auf eine Resorption durch Diffusion. Es gilt jedoch zu bedenken, daß die Ratte β -Carotin nicht unverändert in den Organismus aufnimmt, sondern dieses noch in der Darmwand zu Vitamin A umsetzt. Einzelne Tierarten, die nahe miteinander verwandt sein können, wie Rind und Ziege, zeigen Unterschiede darin, ob sie β -Carotin ins Blut übertreten lassen oder nicht. Diese Tatsache, sowie die selektive Verteilung von β -Carotin zwischen den verschiedenen Gewebetypen, liegen der Forderung nach einer Existenz von spezifischen Rezeptoren, auch am Darm, zugrunde (GANGULY et al., 1959).

Große Mengen Carotin gehen dem laktierenden Rind durch die Milchsekretion verloren, insbesondere in der Kolostralphase. Daraus erklärt sich, daß bei Bedarfsangaben für Milchkühe, zusätzlich zum Erhaltungsbedarf von 100 mg/Tag, noch 10 bis 25 mg je produziertem Liter Milch gefordert werden (LOTT-HAMMER, 1978). Die großen Carotinmengen im Kolostrum sind nötig, um die geringen Reserven des neugeborenen Kalbes rasch zu ergänzen (TIEWS, 1958; KONERMANN & ABOU EL FADLE, 1966). Kälber haben infolge der Plazentaschranke bei der Geburt Serumspiegel von weniger als 5 µg/100 ml (BURGSTALLER et al., 1980). Auch Mastitiden können den β-Carotin-Blutspiegel beeinflussen. CHANDA (1953b) beobachtete bei Kühen, die an Mastitis erkrankt waren, deutlich niedrigere Serumkonzentrationen als bei gesunden Kontrolltieren.

Ungeklärt ist bislang, warum Bullen generell niedrigere β-Carotin-Blutspiegel aufweisen als weibliche Rinder (SUTTON & SOLDNER, 1945; SCHWEIGERT et al., 1987).

2.1.2 Transport im Organismus

Als lipophile Substanz muß β-Carotin an geeignete Lösungsvermittler gebunden im wässrigen Milieu der Körperflüssigkeiten transportiert werden. Nach Ansicht der meisten Autoren gelangt β-Carotin mit den Chylomikronen über den Ductus thoracicus vom Resorptionsort in den Blutkreislauf (DRUMMOND et al., 1935). Dies stellt den für Lipoide üblichen Weg dar. Doch gibt es Berichte, die auf ein eigenständiges Resorptionsverhalten schließen lassen, nach denen zumindest ein Teil des Abtransportes vom Darm über die Pfortader erfolgt (KOWALEWSKI et al., 1951; CORNWELL et al., 1962).

Daß β -Carotin im Blut in proteingebundener Form transportiert wird, ist bereits seit einer Veröffentlichung von PALMER und ECKLES aus dem Jahr 1914 bekannt. Heute sind diese Trägerproteine klassifiziert und charakterisiert (s. 2.2), sowie ihre prozentuale Bedeutung für den β -Carotin-Transport erforscht. Beim Menschen besteht folgendes Verteilungsmuster (MATHEWS-ROTH & GULBRANDSEN, 1974):

VLDL (Very Low Density Lipoprotein): 12 %

LDL (Low Density Lipoprotein): 79 %

HDL (High Density Lipoprotein): 8 % des β -Carotins

Das Rind weist, im Gegensatz dazu, ein völlig anderes Verteilungsmuster auf. SCHWEIGERT et al. (1987) finden folgende Verteilung beim laktierenden Rind:

VLDL: 0.3 %

LDL: 12 %

HDL: 83 % des β -Carotins

Diese Relation besteht unabhängig von Alter, Geschlecht und Rasse, aber auch von der Höhe des β -Carotin-Serumspiegels. Daß sich das β -Carotin-Verteilungsmuster bei erhöhten Blutkonzentrationen nicht ändert, beschreiben MATHEWS-ROTH und GULBRANDSEN (1974) auch für den Menschen.

Eine Änderung der Bindungsverhältnisse erfolgt jedoch im Laufe der Entwicklung vom Saugkalb zum erwachsenen Rind. So finden sich beim Kalb im Mittel 27 % des β -Carotins an VLDL/LDL gebunden (SCHWEIGERT et al., 1987). Kurzzeitige

Schwankungen in der Verteilung konnten auch um den Kalbungszeitpunkt beobachtet werden. Der VLDL-Anteil steigt demnach während des Trockenstellens auf 1 % an und bleibt auf diesem Niveau. Dagegen fällt der LDL-Anteil, nach anfänglichem Anstieg auf 14 %, 3 Wochen ante partum beginnend auf nur 5 % zum Zeitpunkt der Geburt ab. Einige Zeit nach dem ersten Melken post partum stellt sich die Ausgangsverteilung wieder ein. Gleichzeitig mit dem Abfall des LDL-Anteils sinkt der β -Carotin-Serumspiegel stark ab. Diese Beobachtung begründet die Hypothese, daß die LDL-Fraktion den Großteil des Carotins zum Kolostrum beiträgt (SCHWEIGERT, 1986).

Wie die Bindung an die Lipoproteine erfolgt, ist noch unklar. Diskutiert wird einerseits eine unspezifische Einlagerung in den Lipidkern der Lipoproteine (ASHES et al., 1984), während andererseits eine spezifische Bindungsform postuliert wird (KRINSKY et al., 1958).

2.1.3 β -Carotin als Vitamin A-Vorstufe

β -Carotin stellt für die Säugetiere die wichtigste Vitamin A-Quelle dar. Dies gilt vor allem für Pflanzenfresser, die aus ihrer Nahrung kein Vitamin A beziehen können. Hauptort der β -Carotin-Umwandlung ist das Dünndarmepithel (GANGULY & SASTRY, 1985). An einer zentralen Doppelbindung wird das Molekül von der β -Carotin 15,15'-Dioxygenase (EC 1.13.11.21) gespalten und in Retinylester überführt. An Chylomikronen gebunden gelangt das Vitamin in die Leber und wird dort gespeichert. Sinkt der Vitamin A-Blutspiegel, wird es aus den Speichern freigesetzt und vom "retinol-binding-protein" (RBP), einem spezifischen Bindungsprotein, im Blut zu den Zielgeweben transportiert (WOLF, 1984).

Außer im Darm wurde das Enzym zur β -Carotin-Spaltung auch in anderen Organen gefunden: Milchdrüse (BRÜGGEMANN & NIESAR, 1955), Leber und Niere (OLSON & HAYAISHI, 1965), Corpus luteum (GAWIENOWSKI et al., 1974; SKLAN, 1983). PETO et al. (1981) halten es für möglich, daß alle Gewebe in gewissem Umfang in der Lage sind, β -Carotin in Vitamin A zu überführen, um den lokalen Bedarf, auch für Aufgaben der Tumorabwehr, zu decken. Der Katze scheint die Fähigkeit zur β -Carotin-Spaltung gänzlich zu fehlen (GERSHOFF, et al., 1957).

Vitamin A hat im Organismus mannigfaltige Bedeutung bei Fortpflanzung, Wachstum, Zelldifferenzierung, Proteinstoffwechsel und Sehvorgang (WOLF, 1984).

2.1.4 Lipophile Bestandteile der Milch

2.1.4.1 β -Carotin in der Milch

PALMER und ECKELS erkannten bereits 1914, daß das Carotin, welches als Pigment für die Färbung von Körperfett und Blutserum verantwortlich ist, auch die Ursache für die gelbe Farbe des Milchfetts darstellt. β -Carotin repräsentiert 75 - 95 % dieser Carotine der Milch (ULLREY, 1972).

Die β -Carotin-Konzentration in der Milch zeigt eine deutliche Abhängigkeit vom Blutspiegel, wobei bis zu einer Blutkonzentration von 500 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ diese Beziehung linear ist. Bei einem Milchspiegel von etwa 40 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ kommt es zur Plateaubildung (ZUCKER et al., 1980). Mit zunehmender Laktationszahl wird mehr β -Carotin ausgeschieden. Dieses Phänomen ist vielleicht dadurch zu erklären, daß die Membranen der Drüsenzellen durch stattgehabte Mastitiden oder Alterungsprozesse durchlässiger werden (STAMPFER & ZUCKER, 1983).

In der Milch aus Eutervierteln, die an Mastitis erkrankt sind, ist die β -Carotin-Konzentration, im Vergleich zu den gesunden Vierteln, stark erhöht (CHANDA, 1953b; ÖZPINAR et al., 1984). Dieser Anstieg in der Ausscheidung wird umso deutlicher, wenn dabei berücksichtigt wird, daß das pathologische Sekret zugleich einen reduzierten Fettgehalt aufweist. Denn die β -Carotinausscheidung ist in gesunder Milch unmittelbar mit dem Fettgehalt verknüpft (STAMPFER & ZUCKER, 1983). Das Gramm Milchfett aus dem Gemelk erkrankter Viertel enthält etwa 2-3 mal mehr β -Carotin als das Gramm Fett physiologischer Milch (KISZA et al., 1966). Da CHANDA (1953b) davon ausgeht, daß β -Carotin in der Milch an die Oberfläche der Fettkügelchen gebunden ist, hält er die Vermehrung dieser Mizellen, und damit deren Oberflächenvergrößerung, für den Grund des Carotinanstiegs bei Mastitis. Dieser Auffassung widersprechen die Ergebnisse von ÖZPINAR et al. (1984), die den β -Carotin-Anstieg ohne Vergrößerung von Fettkügelchenzahl und -oberfläche feststellen. Dieser Befund ist vereinbar mit der Arbeit von PATTON et al. (1980), die fast alles β -Carotin im Lipidkern der Fettkügelchen konzentriert finden.

Wie die hohe Konzentration von β -Carotin im Kolostrum zustande kommt, ist umstritten. Deutliche peripartale Permeabilitätssteigerungen der Drüsenzellmembranen und Gefäßendothelien, die den Übertritt von Blutbestandteilen in die Milch erleichtern, könnten für die Änderung der Milchezusammensetzung, auch hinsichtlich anderer Inhaltsstoffe, verantwortlich sein (LINZELL & PEAKER, 1971). Die erhöhte Durchlässigkeit drückt sich im Euterödem aus, das um den Geburtstermin herum auftritt, ist jedoch nicht dazu geeignet, die selektive Anreicherung verschiedener Substanzen in der Kolostralmilch zu erklären. β -Carotin wird, wie auch die Immunglobuline, bereits einige Tage ante partum im Euter akkumuliert.

Die Blutspiegel beider Stoffe beginnen schon 2-3 Wochen ante partum zu fallen und haben ihr Minimum zum Geburtszeitpunkt fast erreicht (NEWSTEAD, 1976; SCHWEIGERT, 1986). Die molekularen und zellulären Vorgänge des Übergangs von β -Carotin aus dem Blut in die Milch sind noch nicht aufgedeckt. Die Ergebnisse von SCHWEIGERT (1986) legen für die Kolostralphase die Vermutung nahe, daß β -Carotin in den Lipoproteinmolekülen der LDL-Klasse, unter Vermittlung der LDL-Rezeptoren der Zellmembranen, aus dem Blut in die Milchdrüsenzelle aufgenommen wird und so zum Ort der Milchsekretion gelangt.

Der β -Carotingehalt der Milch unterscheidet sich bei Kühen verschiedener Rassen. So sezerniert das Guernsey-Rind beträchtlich höhere Carotinmengen als das Holstein-Rind (DEUEL et al., 1942; STAMPFER & ZUCKER, 1983). Weiterhin variiert auch die individuelle Fähigkeit zur β -Carotin-Ausscheidung sehr stark. Diese Tatsache läßt die Regression von β -Carotin in der Milch auf den Gehalt im Blut stark streuen (STAMPFER & ZUCKER, 1983).

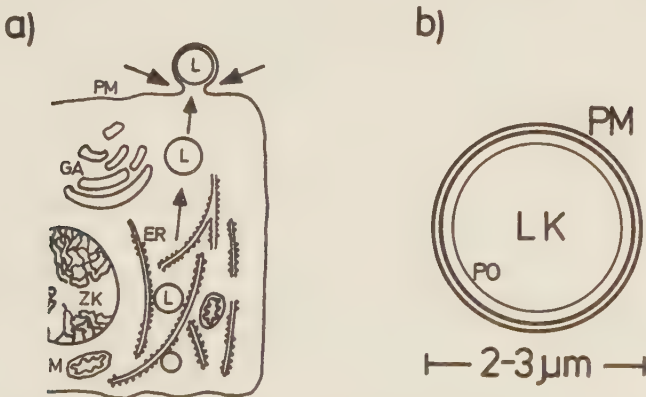
2.1.4.2 Sekretion der Milchlipide:

Das β -Carotin der Milch ist in den Kern der Milchfettkügelchen eingelagert (PATTON et al., 1980), oder zumindest in deren umhüllende Membran (CHANDA, 1953b). Daher ist der Vorgang der Bildung und Ausschleusung dieser Kügelchen auch für die Sekretion von β -Carotin bedeutungsvoll.

Nach Aufnahme der zur Milchfettsynthese nötigen chemischen Bestandteile aus dem Blut, werden am endoplasmatischen Retikulum der Milchdrüsenzelle die Triglyceride gebildet. Diese Vorgänge finden vorrangig nahe der Basalmembran statt.

Üblicherweise erfolgt die Ausschleusung von Zellprodukten aus dem Zellinnern nach ihrer Einlagerung in Golgi-Vesikel. Die Sekretion des Milchfettes stellt jedoch einen Sonderfall dar, weil sie ohne Vermittlung des Golgi-Apparates abläuft. In der Milchdrüsenzelle sammeln sich die Lipide im Cytosol, von welchem sie von einer dünnen Membran, die nicht der Einheitsmembran entspricht, abgegrenzt werden (Abb. 2:PO). Die Fetttröpfchen wandern zur apikalen Zellseite, wobei sie noch an Größe zunehmen. Eine mögliche Erklärung für das Anwachsen ist die Anlagerung von Triglyceriden durch spezifische Transportsysteme an ihre Außenseite.

Abb. 2: Milchfettkügelchen: Sekretion (a) und Aufbau (b) nach PATTON & JENSEN (1976)



Abkürzungen: ER (Endoplasmatisches Reticulum), GA (Golgi-Apparat), L bzw. LK (Lipidkern des Milchfettkügelchens; zu 98 - 99% Triglyceride), M (Mitochondrium), PM (Plasmamembran), PO (präsekretorische Oberfläche), ZK (Zellkern)

Die Freisetzung der Lipide ins Lumen der Alveole stellt eine apokrine Extrusion dar, d.h. die apikale Zellmembran wird, ohne zu platzen, vom Fettröpfchen nach außen ausgebuchtet und, nach der Verschmelzung hinter dem Tröpfchen, von der Zelle abgeschnürt. Auf diese Weise erhält das MilCHFett eine intakte Hülle aus Plasmalemm, welche die Lipide im hydrophilen Medium der Milch emulgiert. Oft werden auch kleine Mengen von Cytoplasma und Zellorganellen zusammen mit den Mizellen abgeschnürt. Eine Übersicht hierzu findet sich bei SAACKE und HEALD (1974), sowie PATTON und JENSEN (1976).

Geht man von einer β -Carotin-Lokalisation in der umhüllenden Membran des MilCHFettkügelchens aus (CHANDA, 1953b), so muß sich das Carotin in der apikalen Drüsenzellmembran befinden und bei der Extrusion auf das Fettkügelchen übertragen werden. PATTON et al. (1980) hingegen finden in der MilCHFettkügelchenmembran kaum β -Carotin, sondern vorrangig im Lipidkern. Dort entspricht seine Konzentration derjenigen in normalem MilCHFett. Die Autoren gehen davon aus, daß bereits während der Bildung des Lipidtröpfchens im Cytoplasma die Pigmenteinlagerung in den Kern erfolgt.

2.1.5 Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes

Aufgrund des Nachweises, daß β -Carotin in vivo in Vitamin A überführt werden kann (MOORE, 1930), galt die Bedeutung von β -Carotin lange Zeit in seiner Funktion als Vitamin A-Vorstufe als erschöpft. Erst nach über zwanzig Jahren wurde dem β -Carotin wieder Beachtung geschenkt, insbesondere hinsichtlich einer Vitamin A-unabhängigen, eigenständigen Funktion im Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes (BRÜGGEMANN und NIESAR, 1957).

Eine deutsche Autorengruppe definierte, durch eine Reihe von Depletionsversuchen mit Kühen und Färsen, mögliche Auswirkungen von β -Carotin-Mangel:

- undeutliche Brunstsymptome oder Stillbrünstigkeit (LOTTHAMMER et al., 1976)
- gehäuftes Auftreten von Ovarialzysten, besonders bei Färsen (MEYER et al., 1975)
- verzögerte Ovulation, beruhend auf der Verlängerung des Intervalls zwischen LH-Peak und Ovulation (SCHAMS et al., 1977)
- verschlechtertes Befruchtungsergebnis (LOTTHAMMER et al., 1976)
- embryonaler Fruchttod (37. - 45. Tag) und Frühaborte (18.- 20. Woche) (LOTTHAMMER, 1978)

In einer Untersuchung, die sich weitgehend an der Versuchsanordnung dieser Gruppe orientierte, konnten FOLMAN et al. (1979) deren Ergebnisse nicht reproduzieren. Dagegen stellt diese Forschergruppe in neueren Arbeiten fest, daß bei Plasmaspiegeln $< 50 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ eine β -Carotin-Zulage die Fruchtbarkeitslage signifikant verbessert (FOLMAN et al., 1983), und daß die β -Carotin-Konzentration im Plasma unter bestimmten, noch ungeklärten, Bedingungen ein limitierender Faktor für die Konzeption sein könnte (ASCARELLI et al., 1985).

Viele Veröffentlichungen stimmten in ihren Ergebnissen, zumindest in einigen Einzelbeobachtungen, mit den beschriebenen Mangelsymptomen überein. ZUCKER et al. (1980) bestätigten das gehäufte Auftreten von Follikelzysten und die Verlängerung der Zeitspanne zwischen LH-Peak und Ovulation.

BONSEMBIANTE et al. (1983a) fanden unregelmäßige Zyklen und schwächere Brunstsymptome bei Mangeltieren, sowie eine um 50 % erhöhte Zahl der Besamungen je Trächtigkeit. Embryonalentwicklung und Aborthäufigkeit blieben von β -Carotin-Mangel jedoch unbeeinflusst (BONSEMBIANTE et al., 1983b).

Durch abwechselnde Depletierungs- und Repletierungsphasen gelang der Nachweis, daß Reproduktionsstörungen, die bei β -Carotin-Mangel auftreten, durch erneute Zufuhr von β -Carotin reversibel sind (ARBEITER et al., 1983).

Bislang ist unklar, welche Blutspiegelwerte beim Rind zur optimalen Aufrechterhaltung der Fortpflanzungsfunktionen als ausreichend anzusehen sind. So erwartet FRIESECKE (1978) bei Serumwerten $< 300 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bereits erste Mangelsymptome, während FOLMAN et al. (1983) $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ als einen Plasmawert erachten, dessen Erhöhung durch β -Carotin-Zulagen mit Sicherheit keinen Effekt mehr zeigt.

Es gibt auch Autoren, die in ihren Untersuchungen keinerlei Auswirkungen von β -Carotin auf das Fortpflanzungsgeschehen feststellen konnten (HEMKEN & BREMEL, 1982; BINDAS et al., 1984; DUCKER et al., 1984).

Solange es nicht gelingt die Mechanismen aufzuklären, mit deren Hilfe β -Carotin seine Wirkungen im Fruchtbarkeitsgeschehen entfaltet, wird es nicht möglich sein, seine Bedeutung schlüssig zu beweisen. Nachdem lange Zeit nur die Auswirkungen von β -Carotin-Mangel beobachtet worden waren, gab es in letzter Zeit einige Arbeiten, die sich mit der Erforschung der Wirkungsprinzipien beschäftigten. So konnten im Corpus luteum des Rindes Enzyme nachgewiesen werden, die β -Carotin in Vitamin A überführen (GAWIENOWSKI et al., 1974; SKLAN, 1983). SCHWEIGERT et al., (1986) schließen aus ihren Ergebnissen ebenfalls auf die Vitamin A-Bildung aus β -Carotin

in der Follikelflüssigkeit und bezeichnen dies als lokale, essentielle Provitamin A-Funktion. Die Autoren stellten nämlich bei der Untersuchung von Follikeln verschiedener Größe fest, daß mit zunehmender Größe der Vitamin A-Gehalt ansteigt, während die β -Carotin-Konzentration konstant bleibt. Die Autoren schließen nicht aus, daß alles Vitamin A in der Follikelflüssigkeit direkt aus der lokalen β -Carotinspaltung herrührt und nicht aus dem Blut übertritt. In neuesten Untersuchungen dieser Autorengruppe zeichnet sich ab, daß der Gehalt an Vitamin A signifikant mit der 17β -Östradiol-Konzentration korreliert ist (SCHWEIGERT, persönliche Mitteilung).

2.1.6 Wirkung in der Tumorabwehr und als Schutz vor Strahlenschäden

PETO et al. (1981) diskutieren drei Möglichkeiten, wie β -Carotin im Krebsgeschehen wirksam werden könnte: 1.) Eigenständige Wirkung auf die Zelldifferenzierungsvorgänge, wie sie für Vitamin A bekannt ist; 2.) Umwandlung in der Zielzelle zu Vitamin-A-wirksamen Stoffen; 3.) Schutz der Zelle durch Abfangen von Noxen, die mutagen wirken können (z.B. Radikale).

Die Zufuhr von β -Carotin kann Entstehung und Weiterentwicklung von durch UV-B-Bestrahlung induzierten Hauttumoren hemmen (MATHEWS-ROTH & KRINSKY, 1985). Zur Erzielung dieser Wirkung bei Mäusen ist eine Dosierung von 0,07 % β -Carotin im Futter erforderlich. Neben strahleninduzierten Tumoren wurden in Mäuseversuchen auch virusinduzierte Tumoren, in diesem Fall durch Moloney Sarcoma Virus, zur Prüfung der β -Carotin-Wirkung herangezogen. Die Inokulation des virushaltigen Tumorextraktes führte bei Mäusen, die zusätzlich mit

β -Carotin versorgt wurden, seltener zur Tumorentwicklung als bei Kontrolltieren. Die Supplementierung wirkte sich auch günstig auf die Tumorrückbildung aus, selbst dann, wenn damit erst nach der Tumorentstehung begonnen wurde (SEIFTER et al., 1982).

Auch im Falle einer Ganzkörperbestrahlung mit γ -Strahlen sind von Mäuseversuchen positive Auswirkungen von β -Carotin-Gaben bekannt. So erhöht sich die LD 50/30 (i.e. diejenige Dosis, die 50 % der exponierten Tiere binnen 30 Tagen tötet) von 510 auf 645 rad unter β -Carotin-Einfluß. Die durchschnittliche Überlebenszeit ist gleichzeitig verlängert (SEIFTER et al., 1984).

Epidemiologische Studien sprechen dafür, daß β -Carotin auch beim Menschen die Tumorfrequenz reduzieren kann (PETO et al., 1981).

Von Bedeutung für eine mögliche Anwendung als Schutzmedikation bei tumortherapeutischen Bestrahlungen ist die Tatsache, daß im Gegensatz zu anderen Substanzen, die zu diesem Zweck verwendet werden, β -Carotin, wie auch Vitamin A, unerwünschte Bestrahlungsfolgen verhindert, ohne zugleich den Bestrahlungserfolg zunichte zu machen (SEIFTER et al., 1984). Da von β -Carotin, selbst bei hoher Dosierung, keine gesundheitlich relevanten Nebenwirkungen bekannt sind, ist der medizinische Einsatz des Provitamins dem des Vitamins vorzuziehen. Höheren Dosen Vitamin A, vor allem bei chronischer Aufnahme, werden zahlreiche Nebenwirkungen, wie Übelkeit, Hautveränderungen, Hypercalcämie und Leberschäden, zugeschrieben. Auch embryotoxische Effekte werden diskutiert. β -Carotin hingegen wird problemlos im Gewebe gespeichert und ist jederzeit wieder

verfügbar. Eine Hypervitaminose A, verursacht durch β -Carotin, wurde noch nie beobachtet, weil mit zunehmendem Angebot die Umwandlungsrate zu Vitamin A stark abfällt (MATHEWS-ROTH, 1982; SEIFTER et al., 1984; MARKS, 1986).

β -Carotin gilt innerhalb der Gruppe von Stoffen, welche in der Lage sind freie Radikale, insbesondere Sauerstoffradikale, zu neutralisieren, als eine der wirksamsten Substanzen (PACKER et al., 1981; KRINSKY & DENEKE, 1982). Diese Radikale entstehen im Organismus gehäuft unter Einwirkung von ionisierenden Strahlen, aber auch bei anderen Gewebeirritationen. In einer Kettenreaktion führen sie zu neuen Radikalen, Membranperoxidation und auch zu Zellmutation. Sie können also Auslöser der Tumorentstehung sein. Im Unterbrechen der Kette scheint die hauptsächliche Wirkung von β -Carotin zu liegen (SEIFTER et al., 1984).

Diese Eigenschaft, Radikale abzufangen, liegt wohl auch der klinischen Anwendung von β -Carotin in der Therapie der Erythropoetischen Protoporphyrrie und anderer Photosensibilitätskrankheiten des Menschen zugrunde (MATHEWS-ROTH, 1982).

Einen anderen Mechanismus für die Wirkung im immunologischen Geschehen, und damit auch in der Tumorabwehr, beschreibt RHODES (1983). Demnach besitzt β -Carotin zweifachen Einfluß auf menschliches Interferon. Zum einen hebt es die Hemmung der Lymphblastenzellteilung durch Interferon auf, zum anderen fördert es die Monocytenaktivierung durch Interferon. Vitamin A hat den genau gegensätzlichen Effekt, sodaß im Interferon-System der Abwehr dem Verhältnis β -Carotin zu Vitamin A eine Steuerfunktion zuzukommen scheint. Einem β -Carotin-Überhang entspricht dabei eine Steigerung der Abwehrleistung.

2.2 Lipoproteine

Lipide müssen beim Transport im Blut durch Bindung an spezifische Proteine in Lösung gehalten werden. Diese Lipid-Protein-Komplexe werden als Lipoproteine bezeichnet, die Proteinkomponenten allein als Apoproteine. Es gibt verschiedene Klassen von Apoproteinen (A, B, C), die neben ihrer Fähigkeit Lipide zu binden auch steuernde Funktionen im Lipoproteinstoffwechsel besitzen.

Das Kriterium für die Klasseneinteilung der Lipoproteine ist ihre unterschiedliche Dichte, die sich im spezifischen Flotationsverhalten in der Ultrazentrifuge ausdrückt. Folgende 4 Klassen werden allgemein beschrieben:

- Chylomikronen
- Very Low Density Lipoproteine (VLDL)
- Low Density Lipoproteine (LDL)
- High Density Lipoproteine (HDL)

Neben Dichte und Apoproteinmuster können zur Charakterisierung auch Menge und Zusammensetzung des Lipidanteils, sowie die Wandereigenschaften im elektrischen Feld herangezogen werden. Die Lipoproteine wandern bei der Elektrophorese je nach Klasse mit der prä β -, β - oder α -Fraktion der Globuline.

2.2.1 Chylomikronen

Die Existenz der Chylomikronenklasse ist beim Rind umstritten (STEAD & WELCH, 1975; FERRERI & ELBEIN, 1982). Aufgrund der besonderen Verdauungsphysiologie der Wiederkäuer (Abbau der Nahrungslipide durch die Pansenflora, kontinuierlicher Ingestafluß) und des niedrigen Fettgehaltes der Nahrung, gelangen im Darm nur geringe Lipidmengen zur Resorption.

Zum Abtransport dieser Lipide ist daher die Bildung relativ weniger Chylomikronen in der Darmwand ausreichend und im Blut erfolgt ihr Abbau sehr rasch (HARTMANN et al., 1966). Trotz ihrer Bedeutung für die Fettresorption ist somit ihre Serumkonzentration gering und der Nachweis schwierig. Aus diesen Gründen ist es üblich geworden, die Chylomikronen beim Rind als Lipoproteinfraktion nicht zu berücksichtigen und alle Lipoproteine mit einer Dichte $d < 1,006 \text{ g/ml}$ der VLDL-Fraktion zuzurechnen (PALMQUIST, 1976; PUPPIONE, 1978). Beim Milchkalb, das sich in Nahrungsfettaufnahme und Verdauung stark vom erwachsenen Rind unterscheidet, werden im Blut Chylomikronen gefunden, die hier 9 % der Lipoproteingesamtmenge ausmachen können (BAUCHART & LEVIEUX, 1985).

2.2.2 Very Low Density Lipoproteine (VLDL)

Die VLDL-Fraktion leistet zwar mit etwa 1 % den geringsten Beitrag zum Gesamtlipidtransport im Blut des Rindes, spielt aber wegen ihres Triglyceridreichtums trotzdem eine wesentliche Rolle im Lipidstoffwechsel peripherer Gewebe und damit auch in der Milchfettsynthese (s. 2.2.6). Bei der trockenstehenden Kuh steigt der Anteil am Lipidtransport auf 5 % an (RAPHAEL et al., 1973a).

Eine Zusammenstellung der wichtigsten Vergleichsdaten für die Lipoproteinfraktionen des Rindes findet sich in Tabelle 1.

Tab. 1: Vergleichsdaten für die Lipoproteine des Rindes
(zusammengestellt nach RAPHAEL et al., 1973 a + b;
STEAD & WELCH, 1975; JENSEN & PITAS, 1976; STORRY et
al., 1980)

Fraktion:	VLDL	LDL	HDL
Dichte g/ml	$d < 1,006$	$1,006 < d < 1,063$	$1,063 < d < 1,213$
Größe: nm	30 - 80	20 - 22	7 - 10
Mobilität bei der Elektro- phorese	prä- β	β , (α)	α
Hauptapo- proteine	B , C	B	A , C
Lipidanteil %	94	80	72
davon in %:			
-Triglyceride	61	11	1
-Phospholipide	18	29	40
-Cholesterin	13	58	57
-freie Fett- säuren	8	2	2

2.2.3 Low Density Lipoproteine (LDL)

Im Gegensatz zum Menschen weisen die Lipoproteine des Rindes im LDL-Dichtebereich ($1,006 < d < 1,063$ g/ml) kein einheitliches Verhalten bei der Elektrophorese auf. Während die gesamte Fraktion beim Menschen β -Mobilität besitzt und daher auch β -Lipoprotein-Fraktion heißt, trifft dies beim laktierenden Rind nur für die Lipoproteine von $1,006 - 1,040$ g/ml Dichte zu. Die Lipoproteine höherer Dichte ($1,040 - 1,063$ g/ml) wandern, wie HDL-Moleküle, mit der α -Globulinfraktion. Verschiedene Autoren bezeichnen diese Fraktion als HDL₁ (PUPPIONE et al., 1972; RAPHAEL et al., 1973b).

Der Proteinanteil von LDL besteht nur aus Apoprotein B, das als Ligand für die Rezeptorbindung des LDL-Moleküls an die Zellmembran peripherer Gewebe Bedeutung hat (GOLDSTEIN & BROWN, 1977).

2.2.4 High Density Lipoproteine (HDL)

Die HDL-Fraktion stellt beim Rind mengenmäßig die größte Lipoproteinklasse dar und transportiert mit über 70 % den Hauptteil der Blutlipide (RAPHAEL et al., 1973a). Triglyceride sind in ihr jedoch nur in Spuren zu finden (STORRY et al., 1980).

Als Proteinbaustein ist neben Apoprotein A auch Apoprotein C vorhanden, das durch Aktivierung der Lipoproteinlipase regulierend in den Lipoproteinstoffwechsel eingreift (JENSEN & PITAS, 1976). Der hohe Proteinanteil von 28 % verleiht der HDL-Fraktion die höchste Dichte ($1,063 < d < 1,210$ g/ml) unter den Lipoproteinklassen (RAPHAEL et al., 1973a).

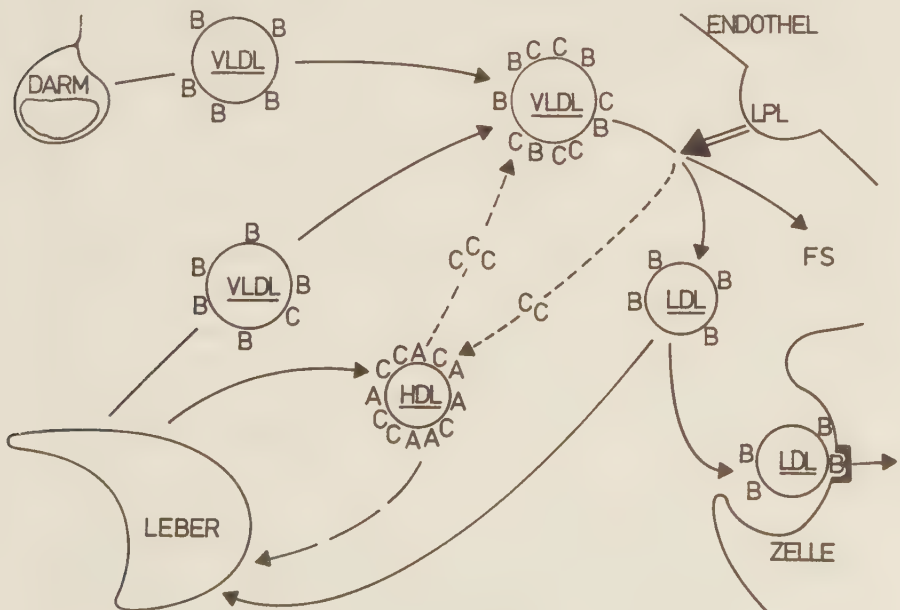
2.2.5 Stoffwechsel der Lipoproteine

Alle Lipoproteinfraktionen sind metabolisch miteinander verknüpft. Im folgenden Abschnitt soll ein vereinfachter Einblick in ihren gemeinsamen Stoffwechsel gegeben werden (nach EISENBERG & LEVY, 1975; PALMQUIST, 1976) (s. Abb. 3).

Wichtigster Ort für die Bildung der Lipoproteine ist die Leber. Sie stellt durch die Synthese von Apoproteinen, Phospholipiden, Triglyceriden und Cholesterin die nötigen Bausteine für VLDL und HDL zur Verfügung. VLDL wird zum Abtransport der Nahrungslipide auch in der Darmwand gebildet, wobei die intestinalen VLDL-Moleküle nur Apoprotein B enthalten. Das Apoprotein C ist demnach für Bildung und Sekretion von VLDL nicht nötig. Es wird erst während der Zirkulation im Blut an VLDL angelagert. In geringem Umfang ist der Dünndarm auch zur Bildung von HDL fähig. Man vermutet, daß der Darm die Apoproteine, die er zur Synthese der Lipoproteine benötigt, teilweise über den Blutweg von der Leber bezieht. Hepatisches HDL besitzt Apoprotein A und C. Das Apoprotein C ist als Strukturbaustein für HDL nicht erforderlich, spielt aber eine wichtige funktionelle Rolle in der Regulation der Lipoprotein-Lipase (LPL)-Aktivität. Im Blut wird nämlich Apoprotein C von HDL auf VLDL übertragen und macht VLDL damit für die LPL angreifbar. Zugleich steigert es die lipolytische Aktivität des Enzyms, das an der Endotheloberfläche kleiner Gefäße in Muskulatur, Leber, Fettgewebe und auch im Milchdrüsengewebe lokalisiert ist. Die LPL ist verantwortlich für das rasche Verschwinden der triglyceridreichen Lipoproteine, Chylomikronen und VLDL, aus dem Blut. Durch Hydrolyse der Triglyceride werden Fettsäuren aus den Lipoproteinmolekülen freigesetzt, die jetzt für den Stoffwechsel der Gewebe verfügbar sind. Zugleich mit den Veränderungen in der Lipidkomponente, lösen sich die Apoprotein C-Einheiten von dem Molekül ab und lagern sich wieder an HDL. Aus VLDL entsteht durch diesen Abbau LDL.

Für LDL existieren Apoprotein B-spezifische Rezeptoren in peripheren Organen und Geweben, die LDL an die Zellmembran binden und dadurch die Aufnahme des ganzen Moleküls durch Endocytose vermitteln. Der nachfolgende Aufschluß durch lysosomale Enzyme liefert der Zelle unter anderem Cholesterin, das sie zur Membransynthese in großen Mengen benötigt (GOLDSTEIN & BROWN, 1977). Um die Zielzellen zu erreichen, muß das LDL-Molekül durch die Gefäßwand geschleust werden und den extravasalen Flüssigkeitsraum erreichen. Der Umsatz von

Abb. 3: Stoffwechsel der Lipoproteine nach PALMQUIST, (1976) und BUDDECKE, (1985)



Abkürzungen: A, B, C, (Apoproteine), FS (Fettsäuren),
LPL (Lipoproteinlipase)

LDL erfolgt deutlich langsamer als der von VLDL. Daraus resultiert eine erheblich größere LDL-Menge im Blut, obwohl aus 1 VLDL-Molekül immer nur 1 LDL-Molekül hervorgeht. Stehen dem Organismus nur geringe Triglyceridmengen zur Verfügung, so fällt die VLDL-Syntheserate ab. Da auch in diesen Zeiten LDL als Cholesterinlieferant zur Aufrechterhaltung der Zellfunktionen nötig ist, wird angenommen, daß die Leber LDL wohl auch de novo bilden kann.

Die Hauptfunktion von HDL im gesamten Geschehen scheint in seiner Rolle als Reservoir für Apoprotein C zu liegen. Darüber hinaus ist HDL jedoch in der Lage, freies Cholesterin aus peripheren Geweben aufzunehmen. Es kann durch diese Fähigkeit beim Menschen das Arterioskleroserisiko senken helfen (BUDDECKE, 1985). Obwohl insgesamt wenig über den Abbau der Lipoproteine bekannt ist, gilt doch die Leber als Haupteliminationsorgan.

2.2.6 Beitrag der Lipoproteine zur Milchfettbildung

Während des Durchströmens des Euters werden Triglyceride aus dem Blut von den Milchdrüsenzellen zurückgehalten (BARRY et al., 1963). Die Triglyceridkonzentration des venösen Blutes ist dadurch gegenüber dem arteriellen Zustrom um bis zu 70 % reduziert (GLASCOCK & WELCH, 1974). Die Triglyceride werden von Chylomikronen, VLDL und LDL bereitgestellt (BISHOP et al., 1969), wobei der VLDL-Fraktion beim Rind besondere Bedeutung zukommt (RAPHAEL et al., 1973a). GLEOCKLER et al. (1980) konnten bei Blutuntersuchungen vor und nach dem Melken feststellen, daß die Menge der VLDL-Proteine und -Triglyceride nach jedem Melken stark verringert war. Dies belegt einen verstärkten Katabolismus dieser Fraktion bei der Milchsekretion. BARRY et al., (1963) folgern aus der arterio-venösen Differenz der VLDL-Konzentration ebenfalls einen

vermehrten Abbau dieser Fraktion im Euter. Gleichzeitig mit dem VLDL-Abfall steigt die HDL-Menge an, was sich durch Übergang von Apoprotein C von VLDL auf HDL beim VLDL-Abbau erklärt (s. 2.2.5).

Die Utilisation der Bluttriglyceride wird durch das Lipoprotein-Lipase-System (LPL) des Milchdrüsengewebes ermöglicht, welches die Fettsäuren für die MilCHFettbildung freisetzt. Mit Einsetzen der Laktation wird die Lipaseaktivität im Euter bis zum achtfachen Wert gesteigert, während die LPL des Fettgewebes an Aktivität einbüßt. Hormonelle Einflüsse, vor allem durch Prolaktin gesteuert, werden als Auslöser dieser Veränderungen vermutet (McBRIDE & KORN, 1963; EMERY, 1973; MENDELSON et al., 1977). Mindestens 80 % der Triglyceride werden zur Aufnahme im Euter hydrolysiert (WEST et al., 1972).

Insgesamt stammen 50 % der Fettsäuren der Milch direkt aus dem Blut, wobei dieser hohe Anteil vor allem durch Fettsäuren mit 16 bzw. 18 Kohlenstoffatomen bedingt ist, die die Milchdrüse gar nicht oder nur in geringem Umfang selbst bilden kann. C16- und C18-Fettsäuren repräsentieren zusammen jedoch etwa 60 % der MilCHFettsäuren (ZEROBIN, 1976). Kurzkettige Fettsäuren werden de novo synthetisiert, während die Milchdrüse zur Sekretion der langkettigen Fettsäuren auf deren Übernahme aus Lipoproteinen angewiesen ist (EMERY, 1973; MENDELSON et al., 1977). Für C18-Fettsäuren scheint sogar ein selektiver Aufnahmemechanismus zu bestehen (STORRY et al., 1980).

Die VLDL-Fraktion gilt heute allgemein als bedeutendster Lipidlieferant zur MilCHFettsynthese (GLASCOCK & WELCH, 1974; PALMQUIST & MATTOS, 1978; STORRY et al., 1980).

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Tiere

Alle Versuche, mit Ausnahme von Versuch I, wurden mit Kühen der Rasse Holstein Friesian (HF) durchgeführt. Für Versuch I standen Jungrinder der Rasse Deutsches Fleckvieh (DFV) mit unterschiedlichem Alter zwischen etwa 11 und 14 Monaten zur Verfügung.

Die Tiere aller Versuche waren in Anbindehaltung aufgestellt, und zwar in folgenden Betrieben:

- Versuch I: Firma Hipp, Pfaffenhofen (HP)
- Versuch II, III, V: Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät der Universität München in Oberschleißheim (OSH)
- Versuch IV: Versuchsstallung des Institutes für Tierernährung der Universität Kiel (UK)

Eine Übersicht über die Daten der Versuche findet sich in der Tabelle 2, eine genauere Versuchsbeschreibung bei den jeweiligen Ergebnissen.

Den 3 Kühen des Versuches IV war vor 3 Jahren in jeweils zwei Operationssitzungen je eine Pansen-, Duodenal- und Ileumfistel implantiert worden. Seit damals wurden sie regelmäßig, vor allem zu Fütterungsversuchen, herangezogen.

Tabelle 2: Versuchsübersicht

Kurzbezeichnung	Präparat	untersucht	n	Fütterung
I Jungrind	-	VLP	25	Heu, Graspilage, Karottenabfälle
II Parenterale Gabe: i.m.	A	VLP/AM	4	Heu, Stroh
III Parenterale Gabe: i.v.	A	VLP/AM	3	Heu, Maissilage, Kraftfutter
IV Gabe über Duodenalfistel	C	VLP/AM	3	Heu, Kraftfutter
V Gabe per os	B	BS/AM	4	Heu, Maissilage Kraftfutter
VI in vitro	A	VLP	-	

Abkürzungen: VLP (Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen); AM (Ausscheidung von β -Carotin in der Milch); BS (nur Blutspiegel von β -Carotin); A (Injektionspräparat; BASF); B (Rovimix β -Carotin 10 %; Hoffmann-La Roche); C (kristallines β -Carotin, Sigma)

Hinsichtlich der Fütterung wurde bei allen Versuchen darauf geachtet, daß während ihrer Dauer keine Änderungen in der Ration erfolgten. Bei Versuch I wurde kein Einfluß auf die betriebsübliche Rationsgestaltung genommen. Dagegen erhielten die Kühe während der Versuche II-V gezielt nur Futtermittel mit niedrigen β -Carotin-Gehalten, um niedrige Blutspiegel, frei von Fütterungseinflüssen, zu erhalten.

3.2 β -Carotin-Präparate

Von der Firma BASF, Ludwigshafen, wurde eine 5%ige β -Carotin-Lösung zur Verfügung gestellt, die sich zur Injektion bei Rindern eignet. Im Handel ist dieses Präparat nicht erhältlich. Es wurde für die Versuche II, III und VI verwendet.

Bei der oralen Applikation (Versuch V) gelangte das Handelspräparat Rovimix β -Carotin 10 % der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen, zum Einsatz.

Für den Versuch IV war es erforderlich, eine möglichst hochkonzentrierte β -Carotin-Lösung herzustellen, da eine große β -Carotin-Menge rasch in die Fistel eingespritzt werden sollte. Zu diesem Zweck wurden je 3 g kristallines β -Carotin (Sigma, Deisenhofen Typ III) mit 10 ml Leinöl und etwas Lecithin, als Emulgator, gemischt bis eine homogene Flüssigkeit entstand.

3.3 Probennahme und Probenkonservierung

Die Entnahme der Blutproben erfolgte allgemein durch Punktion der Vena jugularis, wobei im Versuch III, wegen der Dichte der Entnahmezeiten, über die ersten beiden Stunden des Versuchs ein Venenkatheter verwendet wurde. Nur in Versuch I genügte eine einzelne Probennahme, während für alle anderen

Versuche ein Entnahmeplan für mehrere Proben nötig war, der meist nach den Ergebnissen von Vorversuchen erstellt wurde. Da sich diese Zeitpläne bei den einzelnen Versuchen stark unterschieden, bedingt vor allem durch die jeweilige Applikationsart des β -Carotins, sollen sie detailliert bei den Ergebnissen beschrieben werden.

Nach etwa 4 Stunden Ruhezeit bei Raumtemperatur wurde das mittlerweile vollständig geronnene Blut 20 Minuten bei 1200 xg zentrifugiert. Nach dem Abgießen des so gewonnenen Serums wurden diesem, entsprechend einer Empfehlung von GLEOCKLER et al. (1980), 0,02 % EDTA zur Hemmung der Lipaseaktivität zugesetzt.

Die Milchproben in Oberschleißheim wurden mit dem "true-tester" gewonnen, der einen repräsentativen Anteil des Gesamtgemelkes während des Melkvorganges abscheidet. Beim Versuch IV wurden die Proben aus dem Melkeimer gezogen. Die zeitliche Verteilung der Milchproben ist ebenfalls dem Abschnitt über die Ergebnisse zu entnehmen.

Serum- und Milchproben wurden sofort eingefroren und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt.

3.4 Auftrennung der Serumlipoproteine

Grundsätzlich beruhte die Gewinnung der Lipoproteine auf deren Ausfällung mit Dextransulfat (DS) und CaCl_2 . Durch elektrostatische Anziehung zwischen positiv geladenen Gruppen im Proteinanteil der Lipoproteine und negativ geladenen Gruppen des Dextransulfates entstehen große Komplexe, die nicht in Lösung bleiben, sondern ausfallen (BURSTEIN & SCHOLNICK, 1973). Durch Verwendung von Dextransulfatreagenzien verschiedenen Molekulargewichtes kann eine spezifische

Fällung unterschiedlicher Lipoproteinfraktionen erzielt werden. So fällt Dextransulfat mit einem Molekulargewicht von 500 000 (DS 500 000) alle Lipoproteine des Blutes aus, während Dextransulfat mit Molekulargewicht 5000 (DS 5000) nur mit VLDL und LDL reagiert. Beide Dextransulfattypen wurden von der Firma Sigma, Deisenhofen, bezogen.

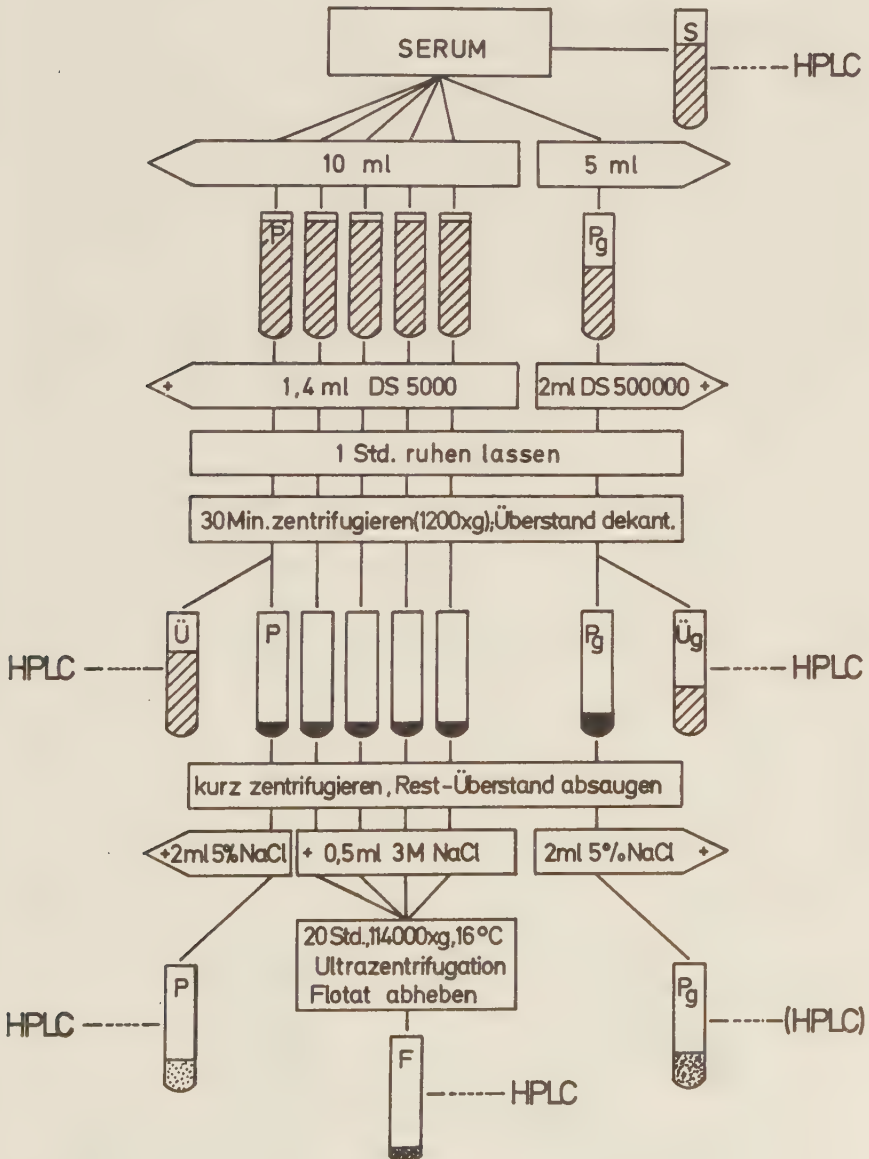
Die Herstellung des Dextransulfat-Reagenz erfolgte für beide Molekulargewichte in gleicher Weise: 1 Teil 10 % Dextransulfatlösung (MG 5000 bzw. 500 000) gemischt mit 5 Teilen 1 M CaCl_2 -Lösung (BURSTEIN & SAMAILLE, 1957). Abbildung 4 zeigt das Vorgehen bei der Gewinnung der einzelnen Serumfraktionen, die dann mit Hilfe der HPLC (High Performance Liquid Chromatography) analysiert wurden. Auftrennung sowie Analyse wurden im wesentlichen in Anlehnung an SCHWEIGERT et al. (1987) durchgeführt.

3.4.1 VLDL/LDL-Darstellung

Für die gemeinsame Ausfällung von VLDL und LDL wurden 10 ml Serum mit 1,4 ml Dextransulfat-Reagenz MG 5000 (DS 5000) gemischt und, nach 1 Stunde Ruhezeit im Dunkeln, 30 Minuten bei 1200 xg zentrifugiert. Das Präzipitat wurde gewonnen und in 2 ml 5 % NaCl-Lösung wieder aufgenommen. Es enthielt die VLDL- und LDL-Fraktion.

Als Reagenzmenge wurden deshalb 1,4 ml gewählt, da sich in Vorversuchen bei Messung am Spektralphotometer bei 700 nm die stärkste Serumtrübung fand, wenn das Serum mit dieser Menge des Reagenz versetzt worden war (STEAD et al., 1978).

Abb. 4: Serumauftrennung zur Gewinnung der Lipoproteinfraktionen

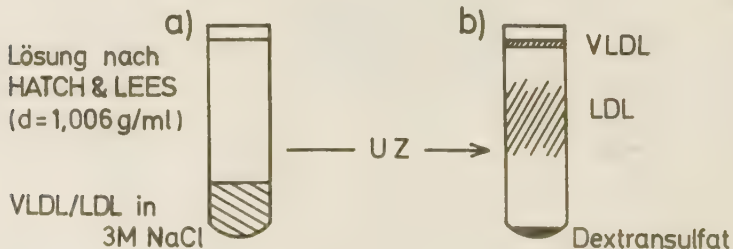


Abkürzungen: S (Serum); Ü (Oberstand), P (Präzipitat); Ü_g, P_g (Oberstand bzw. Präzipitat der Ausfällung der gesamten Lipoproteine); F (Flotat)

3.4.2 VLDL-Darstellung

Aus 3.4.1 geht schon hervor, daß zur Isolierung der VLDL-Fraktion nach der Dextransulfatfällung noch die Ultrazentrifugation als weiterer Schritt nötig war (CORNWELL & KRUGER, 1961). Das als Präzipitat gewonnene Gemisch von VLDL und LDL aus 40 ml Serum wurde dafür in 2 ml 3M NaCl-Lösung aufgenommen und mit Hilfe einer speziellen Schichtungstechnik durch einen zwanzigstündigen Lauf in der Ultrazentrifuge bei 114 000 xg und 16°C Kammertemperatur aufgetrennt. Um die angesprochene Schichtung zu erhalten, wurden etwa 3 ml einer Salzlösung mit einer Dichte von 1,006 g/ml nach HATCH and LEES (1968) in die Ultrazentrifugenröhrchen gefüllt. Anschließend wurde diese relativ leichte Flüssigkeit mit der bedeutend dichteren Mischung aus VLDL/LDL-Präzipitat und 3 M NaCl-Lösung unterschichtet. Dazu wurde die schwerere Flüssigkeit langsam, durch eine horizontal abgeschliffene Spinalkanüle hindurch, am Boden des Röhrchens abgesetzt (Abb. 5a). Als Ultrazentrifuge diente eine Spinco L 50 mit "swing out"-Rotor SW 50/1, beides von Beckman Instruments.

Abb. 5: Schichtung im Zentrifugenröhrchen vor (a) und nach (b) der Ultrazentrifugation (UZ)



Durch die Ultrazentrifugation stellte sich eine Schichtung des Röhrcheninhaltes, wie in Abb. 5b skizziert, ein. Zur weiteren Analyse wurde die flotierende VLDL-Schicht abpipettiert, was dadurch erleichtert war, daß sich zwischen dem VLDL-Flotat und der darunter folgenden LDL-Bande eine breite, klare Flüssigkeitsschicht befand. In ihr war kein β -Carotin zu finden, sie verfälschte daher auch nicht die Ergebnisse der VLDL-Analyse, wenn ein Teil von ihr mit pipettiert wurde.

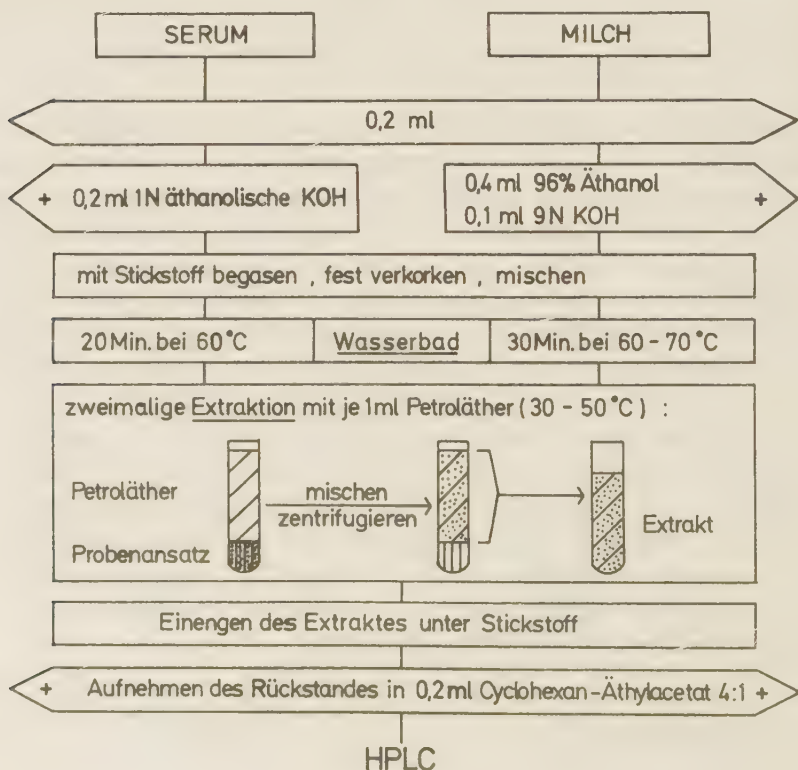
Das abgesaugte Flotat wurde in einem Meßkölbchen mit 5 % NaCl-Lösung auf 1 ml Volumen ergänzt, um bei allen Proben dieselbe Ausgangsmenge zu haben.

3.4.3 Darstellung aller Lipoproteine (VLDL+LDL+HDL)

Da zumindest bei den Versuchen II, III, und VI sicher mit dem Auftreten von nicht-lipoproteingebundenem β -Carotin zu rechnen war, mußte ein Weg gefunden werden, auch diesen freien Anteil zu erfassen. Dafür wurden mit 2 ml Dextransulfatreagenz (DS 500 000) alle Lipoproteine aus 5 ml Serum ausgefällt (modifiziert nach BURSTEIN & LEGMANN, 1982). Die nötige Menge Reagenz wurde in Vorversuchen bestimmt, indem Rinderserum, das unter physiologischen Bedingungen kein freies β -Carotin enthält, mit steigenden Reagenzmengen versetzt wurde, bis eben kein β -Carotin mehr im Überstand nachweisbar war. Das weitere Verfahren entsprach dem zur Gewinnung von VLDL/LDL. Im Überstand nach der Präzipitation fand sich das β -Carotin, das nicht an Lipoproteine gebunden war.

Durch weitere Versuche wurde sichergestellt, daß keine der beiden verwendeten Dextransulfatreagenzien β -Carotin ausfällt, wenn dieses nicht mit Lipoproteinen assoziiert ist. Diese Überprüfung war insbesondere für das β -Carotin in Form des BASF-Präparates nötig, da dieses parenteral verabreicht wurde und somit frei ins Blut gelangen konnte.

Abb. 6: Aufbereitung von Serum, Serumfraktionen und Milch für die HPLC-Analyse



3.5 Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A im Serum und seinen Fraktionen

Sowohl das Ausgangsserum, wie auch die entsprechend 3.4 gewonnenen Präzipitate, Überstände und Flotate wurden in derselben Weise aufgearbeitet (Abb. 6), um sie mit der HPLC analysieren zu können.

Der Verseifung und Extraktion der Proben lag die Methode nach TIEWS und ZENTZ (1967) zugrunde. 200 μ l Probenmaterial wurden mit 200 μ l 1N äthanolischer KOH vermischt. Nach Begasung mit vorgereinigtem Stickstoff und sicherem Verschuß der Mikroreagenzgläschen erfolgte die Inkubation der Probenansätze für 20 Minuten im Wasserbad bei 60 °C. Anschließend wurde zweimalig mit Petroläther extrahiert. Der Einengung des Extraktes unter Stickstoffbegasung bis zum Trocknen folgte die Aufnahme in 200 μ l eines Cyclohexan-Ethylacetat-Gemisches (80 : 20).

Zur Auftrennung und Inhaltsanalyse der Probenextrakte wurde, in Anlehnung an Methoden der Firma BASF (HOPPE, persönliche Mitteilung), die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) eingesetzt. Als technische Anlage fand folgendes HPLC-System Anwendung: Pumpe (Fa. Waters Associates Inc., Massachusetts, USA; Modell 6 000 A), Injektionsventil mit einer 20 μ l-Schleife (Fa. Rheodyne Inc., Berkeley, USA; Modell 7120), Trennsäule (Fa. Waters s.o.; 10 μ Porasil Radial Pak Si-Säule) und Detektor (Fa. Waters s.o.; UV/VIS, Modell 440). Die Aufzeichnung der Chromatogramme übernahm ein Zweikanalschreiber der Firma Philipps, Holland (Modell PM 8288). Als mobile Phase diente ein filtrierte und entgastes Gemisch aus Cyclohexan und Ethylacetat (80 : 20). Die Flußrate betrug 3 ml/min. Die Messungen fanden für β -Carotin bei einer Wellenlänge von 436 nm und für Vitamin A bei 313 nm statt.

Berechnungsgrundlage für die β -Carotin- bzw. Vitamin A-Konzentration der Proben war die Peakhöhe, die sich bei Messung von Standardlösungen bekannter Konzentration ergab. Diese Standardpeaks wurden zu den Probenpeaks in Beziehung gesetzt. Bezugsquelle für den β -Carotin-Standard war die Firma Sigma, Deisenhofen, für den Vitamin A-Standard die Firma Serva, Heidelberg.

3.6 Bestimmung von β -Carotin und Vitamin A in der Milch

Die Milchanalyse richtete sich nach dem Arbeitspapier der EG-Analysenkommission Nr. 2120/VI/72 (1972) in Verbindung mit der Methode nach TIEWS und ZENTZ (1967). Abgesehen von den Reagenzien und der Inkubation im Wasserbad unterschied sich die Aufbereitung der Milch nicht von der des Serums. Unterschiede sind der Abb. 6 zu entnehmen. Die Arbeitsweise am HPLC-Gerät blieb unverändert.

3.7 Berechnung der Konzentrationen

β -Carotin- und Vitamin A-Konzentrationen des Serums und der Milch konnten direkt aus der Peakhöhe der Chromatogramme abgeleitet werden. Die Resultate der Analyse von Überstand, Präzipitat und Flotat mußten erst durch Multiplikation mit Korrekturfaktoren bereinigt werden. Neben dem Ausgleich von Konzentrierungs- und Verdünnungsschritten wurden alle Ergebnisse auf 100 ml Serum hochgerechnet. Bei der Ausfällung mit 1,4 ml DS 5 000 aus 10 ml Serum ergaben sich in Vorversuchen durchschnittlich 11,3 ml Überstand und, nach Aufnahme in 2 ml NaCl, 2,03 ml Präzipitat. Um die Verdünnung durch die Dextransulfatlösung auszugleichen, wurde deshalb das Resultat

der Überstandsanalyse mit dem Faktor 1,13 multipliziert. Entsprechend kam für die Berechnung des β -Carotin-Gehaltes im Überstand aus der Gesamtausfällung (Üg) der Faktor 1,37 zur Anwendung. Der β -Carotin-Gehalt im Präzipitat wurde mit dem Faktor 0,203 korrigiert. Bei der Berechnung der Konzentration im Flotat war zu berücksichtigen, daß als Ausgangsmenge nicht wie sonst 10 ml Serum dienten, sondern 40 ml. Daraus ergab sich der Faktor 0,025. Die genannten Faktoren wurden bei allen Berechnungen verwendet.

Durch Ausfällung und Ultrazentrifugation wurden verschiedene Serumfraktionen (P, Ü, Üg, F) gewonnen, die folgende Anteile an freiem und lipoproteingebundenem β -Carotin umfaßten:

$$\begin{aligned} P &= \text{VLDL} + \text{LDL} \\ Ü &= \text{freies } \beta\text{-Carotin} + \text{HDL} \\ Üg &= \text{freies } \beta\text{-Carotin} \\ F &= \text{VLDL} \end{aligned}$$

Aus diesen bekannten Größen ließen sich die β -Carotin-Mengen in den nicht isoliert dargestellten Lipoproteinfractionen (HDL, LDL) indirekt bestimmen:

$$\begin{aligned} \text{HDL} &= Ü - Üg \\ \text{LDL} &= P - F \end{aligned}$$

Alle Proben durchliefen die β -Carotin- und Vitamin A-Bestimmung als Doppelprobe. Die Konzentrationen errechneten sich als Mittelwert aus beiden Ergebnissen.

4 VERSUCHSANORDNUNG UND ERGEBNISSE

In den Verlaufsuntersuchungen der Versuche II - VI sollte das grundsätzliche Verhalten von β -Carotin und Vitamin A dargestellt werden. Zu diesem Zweck wurde der jeweilige Mittelwert aus den Probenergebnissen der einzelnen Tiere zu den verschiedenen Entnahmezeiten errechnet. Die Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Zeiten konnten in sinnvoller Weise statistisch nicht beurteilt werden, da hierfür die Tierzahlen ($n = 3-4$) zu klein waren.

4.1 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteine beim Jungrind (Versuch I)

4.1.1 Versuchsanordnung

Das untersuchte Blut stammte von 25 weiblichen Fleckviehrindern, die zur Mast aufgestellt waren. Ein Teil ihrer Mastration bestand aus Karottenabfällen, wovon in schwankender Menge bis zu 20 kg pro Tier und Tag verfüttert wurden.

4.1.2 Ergebnisse

Die Untersuchung der Verteilung auf die Lipoproteinfractionen zeigte, daß HDL mit 77 % den Hauptanteil des β -Carotins bindet, gefolgt von LDL mit 17 % und VLDL mit 0,7 % (Tab. 3). Freies, nicht-lipoproteingebundenes β -Carotin konnte nicht nachgewiesen werden. Trotz gleicher Ration lagen höchste und niedrigste Serumkonzentration weit auseinander: 740 μg β -Carotin/100 ml gegenüber 240 μg /100 ml. Bei einem Vergleich des prozentualen Verteilungsmusters im Blut der 10 Tiere mit

den niedrigsten β -Carotin-Spiegeln und den 10 Tieren mit den höchsten Blutkonzentrationen war kein nennenswerter Unterschied feststellbar. Dies galt auch für die zugehörigen Vitamin A-Spiegel im Serum.

Tab. 3: β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in Serum und Lipoproteinen ($\mu\text{g}/100\text{ml}$, $\bar{x} \pm s$) bei Jungrindern

	β -Carotin				Vitamin A
	Serum	VLDL	LDL	HDL	Serum
A n=25	466 $\pm$ 144	3.4 $\pm$ 1.5 (0,7 $\pm$ 0,3)	77 $\pm$ 23 (17 $\pm$ 4)	363 $\pm$ 122 (77 $\pm$ 5)	30 $\pm$ 6
B n=10	329 $\pm$ 55	2.6 $\pm$ 0.9 (0,8 $\pm$ 0,3)	60 $\pm$ 13 (18 $\pm$ 3)	256 $\pm$ 46 (78 $\pm$ 5)	30 $\pm$ 5
C n=10	613 $\pm$ 83	4.1 $\pm$ 1.4 (0.7 $\pm$ 0.2)	95 $\pm$ 20 (15 $\pm$ 5)	486 $\pm$ 83 (79 $\pm$ 5)	29 $\pm$ 7

A (gesamte untersuchte Gruppe), B (10 Tiere der Gruppe mit den niedrigsten β -Carotin Blutspiegeln) C (10 Tiere mit den höchsten β -Carotin-Blutspiegeln); Werte in Klammern: % der Serum-Konzentration, $\bar{x} \pm s$;

4.2 Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach intramuskulärer Applikation von β -Carotin (Versuch II)

4.2.1 Versuchsanordnung

Nach einem Zeitraum von 3 Wochen, in dem die Kühe Futtermittel mit geringem β -Carotin-Gehalt erhalten hatten, wurden 4 Tiere mit niedrigen β -Carotin-Blutspiegeln ausgewählt. Diesen wurden, nach Gewinnung einer Nullprobe (Blut und Milch), 10 ml des BASF-Präparates mit 5 % β -Carotin in 2 Portionen in die langen Sitzbeinmuskeln der linken und rechten Seite injiziert. Aufgrund der Ergebnisse eines Vorversuches wurde mit der Probengewinnung 6 Stunden nach der Injektion begonnen. Es ergab sich folgendes Entnahmeschema für Blut- und Milchproben: Nullprobe (0)-Injektion: 10 ml i.m. - 6 - 10 - 14 - 18 - 22 - 26 - 34 - 42 - 46 - 65 - 89 Stunden (h) - 10 - 16 - 24 Tage (d) post injectionem. Milchproben wurden bis zum 10. Tag gezogen.

4.2.2 Ergebnisse

Bei den beschriebenen Daten (Tab. 4) handelt es sich um die Mittelwerte aus den Ergebnissen der 4 Kühe, die in ihrem Verlauf gut übereinstimmten. Der Gesamtspiegel an β -Carotin stieg von ca. 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ rasch an und erreichte nach 26 Stunden ein Plateau, das der 10fachen Ausgangskonzentration entsprach (Abb. 7 : A). Bis zum 10. Tag p. inj. fiel der Spiegel nur leicht ab (um 17 %), danach rascher (um weitere 55 % bis zum 16. Tag). Nicht-lipoproteingebundenes β -Carotin verhielt sich zu Versuchsbeginn wie der Serumspiegel, nahm aber bereits nach 42 Stunden wieder deutlicher ab und war nach 16 Tagen nicht mehr nachweisbar.

Tab. 4: Zeitlicher Verlauf der β -Carotin-Konzentration in Serum und Lipoproteinfraktionen (Zeilen 1 - 5), sowie der Vitamin A-Konzentration (Zeile 6) nach intramuskulärer β -Carotin Applikation ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$; $\bar{x} \pm s$; $n=4$)

Zeitpunkt	0	6	10	14	18	22	26	34	42	46	65	89h	10	16	24d
1 Serum $\bar{x} \pm s$	91 32	374 64	699 137	679 95	722 95	846 77	1007 134	989 89	1049 83	950 59	933 95	828 43	840 118	386 70	267 50
2 - HDL	75 28	199 38	271 18	277 64	305 53	348 73	348 118	460 96	495 78	483 69	645 144	583 50	662 70	231 27	
3 - LDL	12 5	61 32	131 62	109 42	122 58	91 37	107 37	99 30	98 29	102 33	113 22	108 22	109 14		
4 - VLDL	0.2 0.1	2.1 1.3	13.2 10.7	18.5 8.1	28.7 11.8	19.7 4.0	18.4 5.1	12.1 2.4	14.6 1.7	15.8 2.3	5.7 2.8	2.6 0.9	2.0 0.5		
5 - frei	n.d.	92 44	221 51	219 21	295 44	334 60	348 95	351 105	336 125	307 104	166 57	72 31	26 9	n.d.	n.d.
6 - Vit.A	27 2	25 3	27 4	28 6	26 3	27 4	29 4	27 3	26 3	26 3	25 3	26 3	27 2	29 2	28 2

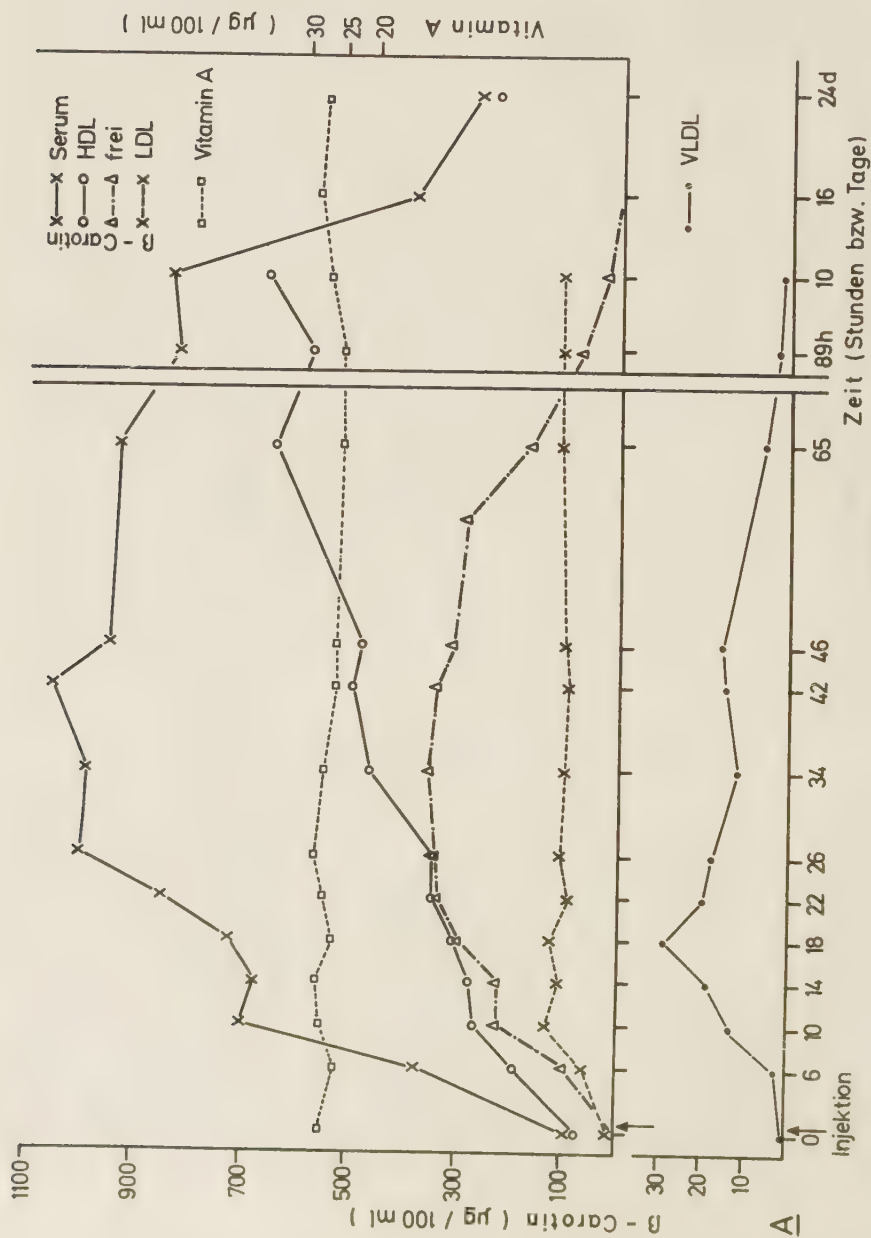
Zeitlicher Verlauf der β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in der Milch ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$; $\bar{x} \pm s$; $n=4$)

7 β -Car. $\bar{x} \pm s$	2 1	3 1	3 1	4 1	4 0	4 1	5 1	6 2	6 1	6 1	7 2	9 2	13 2		
8 Vit.A	15 4	15 5	18 4	17 3	16 3	17 1	28 4	24 3	22 1	20 1	15 2	19 2	20 6		

n.d.: nicht nachweisbar

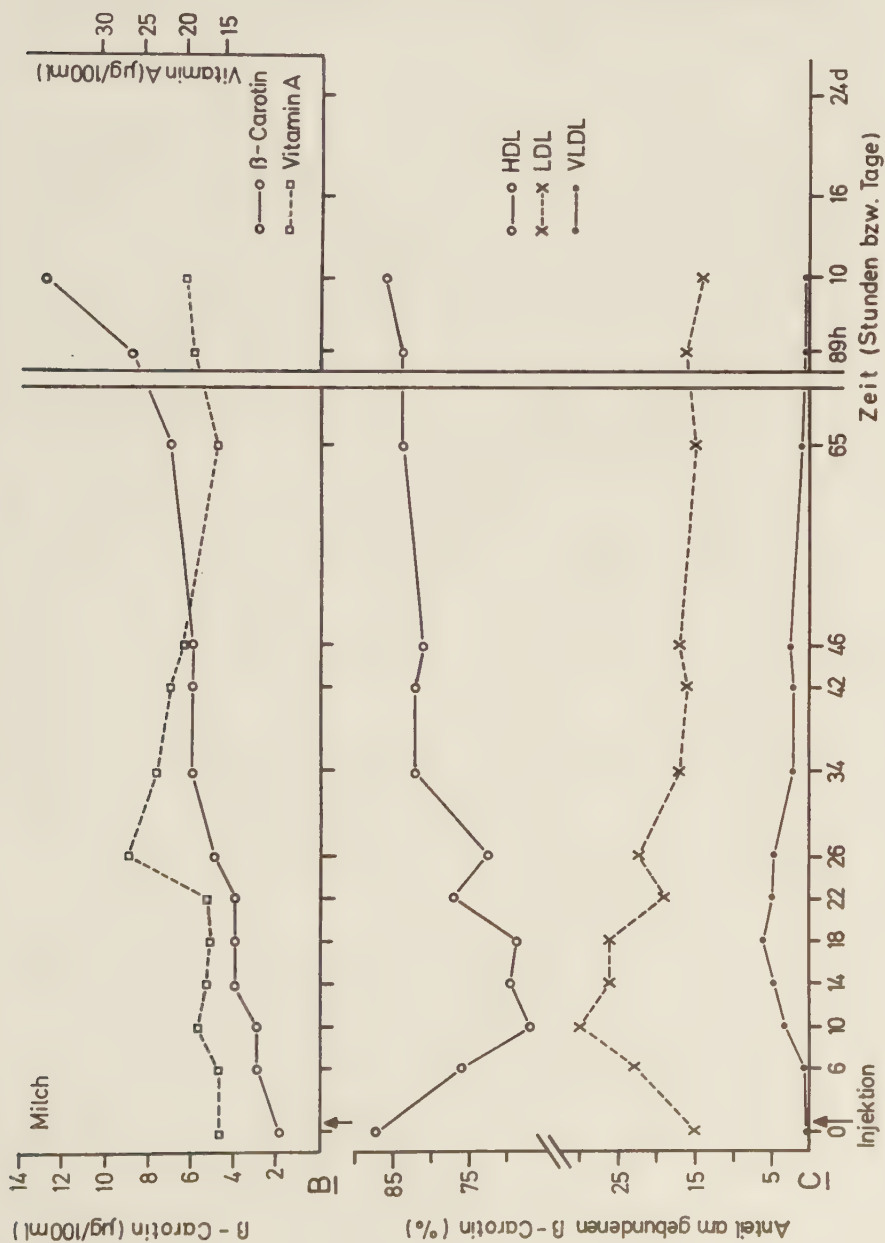
Abb. 7: Intramuskuläre β -Carotin-Applikation

7A β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration sowie Verteilung von β -Carotin auf die Serumlipoproteine



7B β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in der Milch

7C Prozentualer Anteil der Lipoproteine an der Bindung des β -Carotins im Serum



Der Vitamin A-Gehalt wich über die gesamte Versuchsdauer nur geringfügig (um 1-2 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) von einer mittleren Serumkonzentration von 27 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ab.

Der β -Carotin-Gehalt der Lipoproteinfraktionen wuchs schnell an. Mengenmäßig nahm HDL den größten Anteil auf (Anstieg von 75 auf 650 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). Die maximale Bindung wurde für HDL aber erst gegen Versuchsende gefunden. Bei Betrachtung der prozentualen Verteilung des gebundenen β -Carotins zu verschiedenen Zeitpunkten (Abb. 7: C) fällt auf, daß es nicht zu einer gleichmäßigen Beladung der einzelnen Fraktionen kam. Der LDL-Anteil nahm zuerst zu, gefolgt von VLDL. LDL erreichte einen maximalen Anteil von 30 % (ausgehend von 13 %) am gebundenen β -Carotin, VLDL einen solchen von 6 % (ursprünglich 0,2 %). Der VLDL-Anteil fiel in der Folgezeit allmählich ab, wobei auch die an diese Fraktion gebundene β -Carotin-Menge wieder abnahm. Im Gegensatz dazu blieb die an LDL gebundene β -Carotin-Menge relativ konstant bei Werten um 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Die Abnahme ihres prozentualen Anteils ging auf die kontinuierliche Zunahme der Bindung an HDL zurück.

In der Milch (Abb. 7: B) stieg der β -Carotin-Gehalt nur langsam an. Auch als der Serumspiegel bereits wieder im Sinken begriffen war, nahm β -Carotin in der Milch noch immer zu und erreichte seinen gemessenen Maximalgehalt nach 10 Tagen. Leider wurden aufgrund der Annahme, daß Milchspiegel und Blutspiegel ihr Maximum parallel erreichen müßten, nicht länger Milchproben gezogen. Die Vitamin A-Konzentration der Milch nahm im Versuchsdurchschnitt zu, wobei eine deutliche Erhöhung am zweiten Versuchstag auftrat, gleichzeitig mit dem β -Carotin-Maximum im Blut.

4.3 Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach intravenöser Applikation von β -Carotin (Versuch III)

4.3.1 Versuchsanordnung

In einer Voruntersuchung wurden 3 Kühe mit niedrigen β -Carotin-Blutspiegeln ermittelt. Da die Konzentration im Serum in dieser Fütterungsperiode (Winter) ohnehin niedrig war, konnte auf eine Depletierungsphase verzichtet werden. In die Vena jugularis der rechten Seite wurde diesen Tieren ein Venenkatheter gelegt, der während der beiden ersten Stunden des Versuchs zur Blutentnahme benutzt wurde. Nach Gewinnung der Nullproben (Blut, Milch) erfolgte die Injektion von 2 ml des BASF-Präparates mit 5 % β -Carotin in die linke Vena jugularis. Die intravenöse Gabe des Präparates wurde in dieser Dosierung von allen Tieren gut vertragen.

Blut wurde zu folgenden Zeiten gewonnen: Nullprobe (0)-Injektion: 2 ml i.v. - 5' - 10' - 20' - 40' - 60' Minuten - 2 - 4 - 8 - 12 - 16 - 22 - 36 Stunden (h) - 3 - 7 - 10 - 22 Tage (d) post injektionem. Der Probenplan für die Milch unterschied sich davon: 0 - Inj. - 4 - 16 - 22 - 32 h - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 10 - 22 d p.inj.

4.3.2 Ergebnisse

Erwartungsgemäß lag die höchste Serumkonzentration und die größte Menge an nicht-lipoproteingebundenem β -Carotin bei der ersten Blutprobe vor, 5 Minuten nach der Injektion (Tab 5; Abb. 8A). Der freie β -Carotin-Anteil nahm von diesem Zeitpunkt an stetig ab und pendelte sich nach 4 Stunden bei einem

niedrigen Niveau von etwa 4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ein, was ca. 2 % des Serumspiegels entsprach. Nach 7 Tagen war kein freies β -Carotin mehr zu finden. Der Serumgesamtspiegel fiel innerhalb der ersten Stunde um die Hälfte von 522 μg auf 238 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Er begann jedoch 2 Stunden später wieder zu steigen und erreichte 32 Stunden p. inj. eine Höhe von 330 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Der erneute Konzentrationsabfall verlief dann sehr langsam. Die Vitamin A-Konzentration im Serum ließ im Versuchsverlauf insgesamt weder eine Tendenz zur Zunahme noch zur Abnahme erkennen.

Die Verteilung des lipoproteingebundenen β -Carotins auf die Fraktionen unterscheidet sich nur während der ersten 2-4 Stunden von der Ausgangsverteilung vor der β -Carotin-Injektion. Bei der Analyse dieses Versuches wurde darauf verzichtet VLDL und LDL aufzutrennen, da die Gewinnung der großen hierfür nötigen Blutmengen (jeweils 150 ml) nicht möglich gewesen wäre, ohne die Einhaltung der kurzen Probenintervalle am Versuchsanfang zu gefährden. (Zum Vergleich mit einem geplanten in vitro-Versuch wurde dieses Risiko jedoch bei 1 Kuh bei den Proben 0, 5' und 2h eingegangen. Die Ergebnisse finden sich unter 4.6. VLDL/LDL banden während der Anfangsphase relativ mehr β -Carotin als HDL (Abb. 8C). Der VLDL/LDL-Anteil am gebundenen β -Carotin kletterte direkt nach der Injektion von 12 auf 18 % und blieb etwa 2 Stunden erhöht. Danach bewegte sich das Verteilungsmuster trotz sich ändernder gebundener β -Carotin-Menge mit nur geringer Abweichung um die Ausgangsverteilung. Die gebundene β -Carotin-Menge stieg in dieser Zeit von etwa 200 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ nach 2 Stunden innerhalb von 30 Stunden auf 310 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ an und fiel bis Versuchsende wieder auf 200 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

Tab. 5: Zeitlicher Verlauf der β -Carotin-Konzentration in Serum und Lipoproteinfraktionen (Zeilen 1 - 4), sowie der Vitamin A-Konzentration (Zeile 5) nach intramuskulärer β -Carotin Applikation ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$; $\bar{x} \pm s$; $n=3$)

Zeitpunkt	0	5'	10'	20'	40'	60'	2h	4h	8h	12h	16h	22h	32h	3d	5d	7d	10d	22d
1 Serum $\bar{x}$ +s	123 38	522 90	419 86	336 99	304 85	238 55	235 47	248 47	283 44	287 39	294 45	303 58	333 69	308 60	286 53	280 86	215 82	
2 - HDL	99 22	115 42	109 42	124 98	143 25	132 20	169 18	200 26	234 29	234 29	244 25	248 29	271 33	266 40	236 33	236 58	182 68	
3 - LDL/ VLDL	15 11	26 15	26 14	29 16	23 13	26 14	26 14	29 16	34 21	33 16	37 15	43 21	42 19	33 22	36 23	30 27	23 19	
4 - frei	n.d.	343 32	266 24	166 31	111 34	66 15	22 4	4 1	5 3	4 5	5 5	3 3	3 3	3 4	n.d.	n.d.	n.d.	
5 - Vit.A	21 1	21 1	21 1	17 1	20 1	15 2	18 1	19 3	21 1	18 1	16 2	16 1	18 1	19 2	22 3	21 3	22 3	

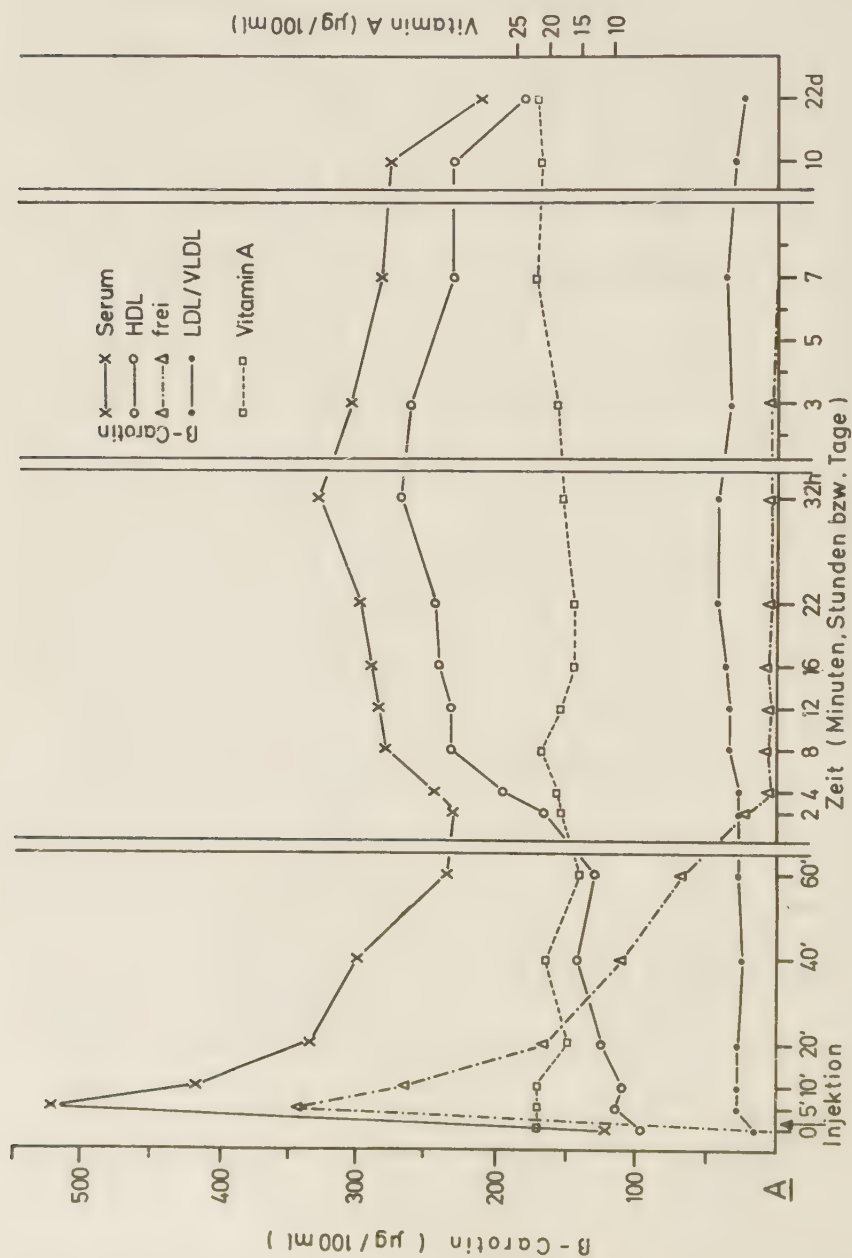
Zeitlicher Verlauf der β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in der Milch ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$; $\bar{x} \pm s$; $n=3$)

6 β -Car. $\bar{x} \pm s$	5 2							7 3			8 5	10 6	11 6	15 6	13 6	16 5	11 4	9 4
7 Vit.A	13 5							12 3			20 5	26 8	33 5	37 8	48 10	27 5	15 3	12 3

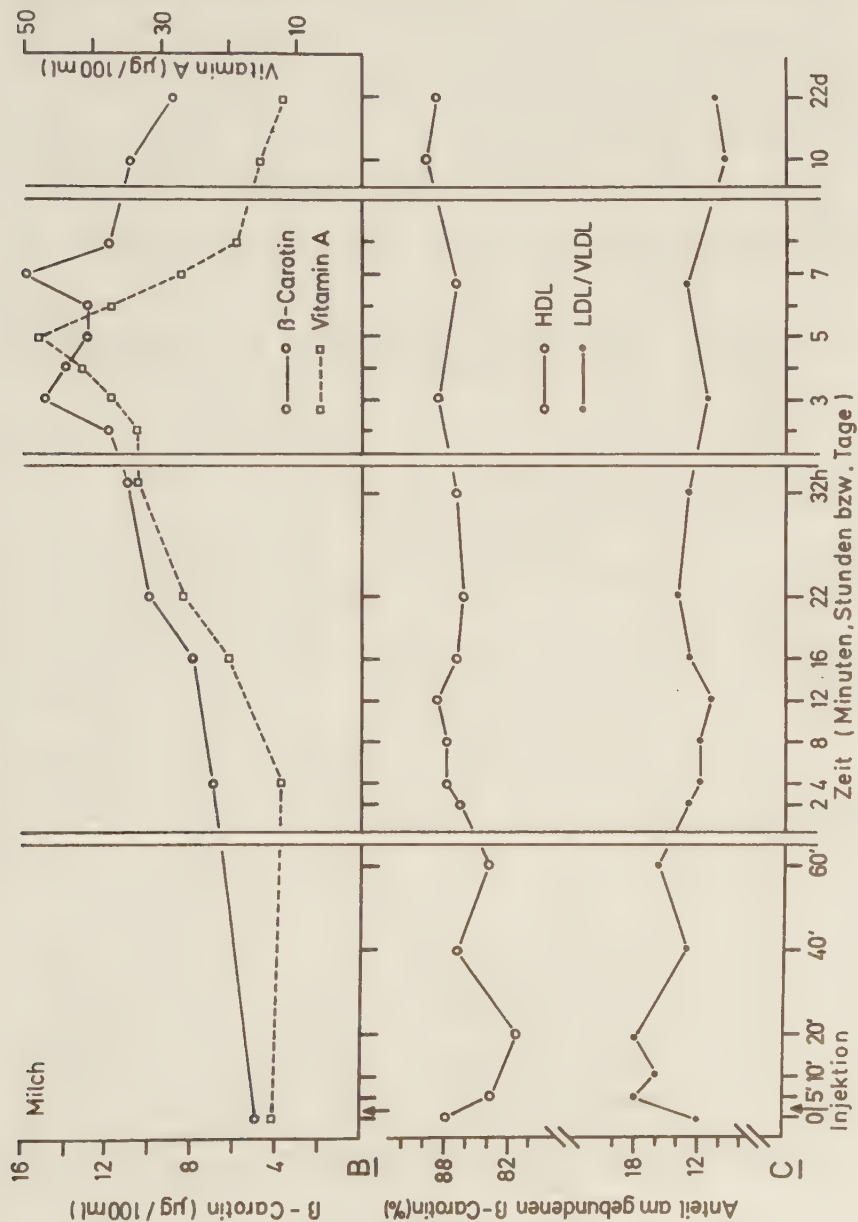
n.d.: nicht nachweisbar

Abb. 8: Intravenöse β -Carotin-Applikation

8A β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration sowie Verteilung von β -Carotin auf die Serumlipoproteine



8C Prozentualer Anteil der Lipoproteine an der Bindung des β -Carotins im Serum



Der β -Carotingehalt der Milch stieg von 5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ kontinuierlich an, erreichte sein Maximum (16 μg) aber erst in der Zeit zwischen 3. und 7. Tag, also nach dem höchsten β -Carotin-Gehalt des Serums, wobei hier nicht die hohe Anflutungskonzentration unmittelbar nach der Injektion gemeint ist. Obwohl der Vitamin A-Gehalt im Serum sich kaum änderte, stieg er in der Milch parallel zum β -Carotin-Gehalt an und erreichte einen deutlichen Gipfel am 5. Tag p.inj. mit 48 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

4.4 Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch nach der Gabe von β -Carotin über eine Duodenalfistel (Versuch IV)

4.4.1 Versuchsanordnung

3 Kühen mit Duodenalfistel wurden nach Gewinnung einer Nullprobe (Blut, Milch) je 3 g in Öl gelöstes β -Carotin in die Fisteln gegeben. Blutproben wurden nach folgendem Plan genommen: Nullprobe (0) - Eingabe: 3 g - 30' - 60' Minuten - 2 - 3 - 4 - 6 - 8 - 12 - 16 - 22 - 31 - 43 Stunden (h) - 3 - 5 - 7 Tage (d) nach Eingabe. Die Milchproben stammten von den üblichen Melkzeiten im Abstand von 12 Stunden, beginnend nach 6 Stunden.

4.4.2 Ergebnisse

Innerhalb der 7-tägigen Versuchsdauer ergab sich lediglich eine kurzfristige maximale Erhöhung des β -Carotin-Spiegels im Blut eines Tieres um 8 %. Insgesamt differierten die gemessenen Werte im Versuchsverlauf durchschnittlich um etwa 3 % von den Ausgangswerten. Auch die Gehalte in den Lipoproteinfraktionen schwankten nur geringfügig. Dementsprechend lag über

den gesamten Versuch fast identisch dieselbe prozentuale Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteine vor, wie zu Versuchsbeginn. Die Vitamin A-Werte blieben ebenso unverändert. Die Mittelwerte mit Standardabweichung über den gesamten Versuch in Tabelle 6 zeigen, daß es zwischen den 16 Einzelproben je Tier nur kleine Unterschiede gab.

Das verabreichte β -Carotin wurde also in nennenswertem Umfang weder unverändert resorbiert, noch zur Vitamin A-Bildung genutzt. Auf die Analyse der Milch wurde verzichtet, da unter den gegebenen Voraussetzungen keine vermehrte Ausscheidung von β -Carotin oder Vitamin A in die Milch zu erwarten war.

Tab. 6: β -Carotin in Serum und Lipoproteinen, sowie Vitamin A im Serum bei den 3 Tieren von Versuch IV als Mittelwert mit Standardabweichung über 16 Einzelproben. ($\mu\text{g}/100 \text{ ml } \bar{x} \pm s$; $n = 16$) im Versuchsverlauf von 7 Tagen

Tier Nr.	β -Carotin				Vitamin A
	Serum	HDL	LDL	VLDL	Serum
1	82 $\pm$ 3	68 $\pm$ 3 (82 $\pm$ 2)	12 $\pm$ 1 (15 $\pm$ 1)	0.2 $\pm$ 0.1 (0.3 $\pm$ 0.1)	21 $\pm$ 2
2	207 $\pm$ 8	182 $\pm$ 6 (87 $\pm$ 2)	25 $\pm$ 4 (12 $\pm$ 2)	0.5 $\pm$ 0.1 (0.2 $\pm$ 0.1)	39 $\pm$ 2
3	167 $\pm$ 5	148 $\pm$ 6 (85 $\pm$ 2)	24 $\pm$ 4 (15 $\pm$ 2)	0.5 $\pm$ 0.1 (0.3 $\pm$ 0.1)	34 $\pm$ 2

Werte in Klammern: % der Serumkonzentration, $\bar{x} \pm s$

4.5 Verlauf der β -Carotin- und Vitamin A-Spiegel in Blut und Milch nach Gabe von β -Carotin per os (Versuch V)

4.5.1 Versuchsanordnung

4 Kühe erhielten an 2 aufeinanderfolgenden Tagen morgens und abends je 75 g Rovimix β -Carotin 10 % (Hoffmann-LaRoche) unter Kraftfutter gemischt, das von den Tieren gerne aufgenommen wurde. Bereits am Morgen des zweiten Tages war daraufhin der Kot der Tiere deutlich gelb-orange gefärbt. Makroskopisch erkennbar hielt diese Färbung 3 Tage an.

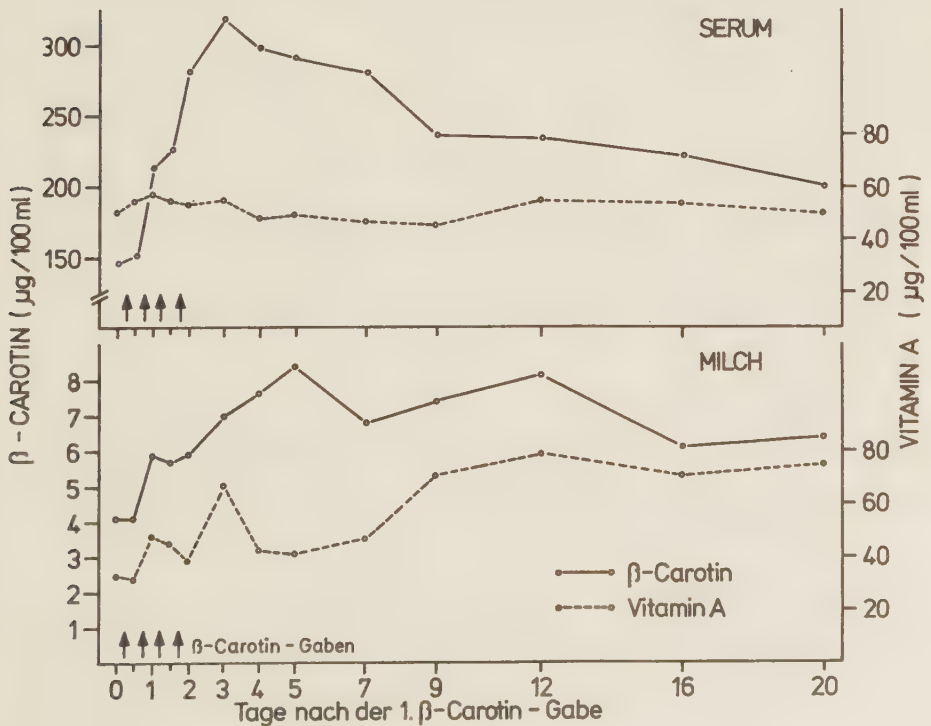
Blut- und Milchproben wurden nach folgendem Plan genommen, gerechnet nach der 1. β -Carotin-Gabe: Nullprobe (0) - 1. Gabe: 75 g p.o. - 0.5 d; 2. Gabe: 75 g p.o. - 1d; 3. Gabe: 75 g p.o. - 1.5; 4. Gabe: 75 g p.o. - 2 d - 3 d - 4 d - 5 d - 7 d - 12 d - 16 d - 20 d nach der ersten Gabe.

4.5.2 Ergebnisse

Trotz der Verabreichung von insgesamt 30 g β -Carotin stieg der gemittelte β -Carotin-Blutspiegel der 4 Kühe nur um 170 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Die höchste Steigerung war bei einem Einzeltier von 182 μg auf 403 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ zu beobachten. Zusammen mit der beschriebenen Gelbfärbung des Kotes zeigt dies, wie wenig von dem oral angebotenen β -Carotin resorbiert wurde. Der höchste Blutspiegel konnte 3 Tage nach der 1. Gabe von β -Carotin festgestellt werden. Es fand keine nennenswerte Nutzung des Pigmentes als Provitamin statt, da der Vitamin A-Spiegel, der allerdings schon zu Versuchsbeginn recht hoch war, nur in den ersten 4 Tagen über das Ausgangsniveau erhöht war (von 50 auf 57 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). Die Erhöhung des

Vitamin A-Gehaltes fiel zeitlich zusammen mit der Anstiegsphase der β -Carotin-Konzentration. Als β -Carotin sein Maximum erreichte, begann Vitamin A jedoch wieder zu sinken, sogar unter das Niveau seiner Ausgangskonzentration. Erst nach dem Rückgang des β -Carotin-Gehaltes im Blut stieg Vitamin A wieder an.

Abb. 9: β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in Serum und Milch nach oraler Gabe von β -Carotin



In der Milch war der β -Carotin-Gehalt um 105 % gegenüber der Nullprobe erhöht, was in etwa der Zunahme im Serum gleichkommt (120 %). Doch wurde dieser Maximalwert erst nach 5 Tagen erreicht, um 2 Tage gegenüber dem Serummigipfel verzögert. Der Vitamin A-Gehalt der Milch wies, wie bei Versuch II, eine erste isolierte Erhöhung, zugleich mit Zunahme und Maximum von β -Carotin im Serum auf. Der spätere Anstieg der Konzentrationskurve von Vitamin A fiel zusammen mit einem nochmaligen Anwachsen der β -Carotin-Konzentration in der Milch.

Tab. 7.: Zeitlicher Verlauf der β -Carotin- und Vitamin A-Konzentration in Serum und Milch nach oraler β -Carotin-Gabe ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$; $\bar{x} \pm s$; $n = 4$)

Tag nach der 1. Gabe	0	0.5	1	1.5	2	3	
Serum: β -Carotin	$\bar{x}$ 147 $\pm s$ 24	152 27	216 55	227 59	288 84	321 98	
Vitamin A	50 11	54 13	57 12	55 8	53 10	55 11	
Milch: β -Carotin	4.1 0.4	4.1 0.5	5.9 1.7	5.7 1.5	5.9 1.0	7.0 1.3	
Vitamin A	33 3	32 5	48 9	45 7	39 10	66 24	
	4	5	7	9	12	16	20
Serum: β -Carotin	$\bar{x}$ 300 $\pm s$ 100	293 100	283 91	237 73	238 69	223 60	200 68
Vitamin A	48 13	49 11	47 7	45 9	54 10	53 5	50 10
Milch: β -Carotin	7.7 1.7	8.4 1.7	6.8 1.7	7.4 2.3	8.1 2.3	6.1 1.6	6.4 2.3
Vitamin A	42 12	41 11	47 11	71 8	79 18	71 8	74 16

4.6 Verlauf der Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteine in vitro (Versuch VI)

4.6.1 Versuchsanordnung

Frisches Blutserum einer Kuh wurde mit 0,02 % EDTA versetzt und bei 37°C mit einem Magnetrührer im Brutschrank inkubiert. Nach Entnahme einer Nullprobe wurde β -Carotin in Form des BASF-Präparates dem Serum zugegeben. Nach 5 Minuten und 2 Stunden erfolgten weitere Probenahmen, die sofort, wie auch die Nullprobe, entsprechend 3.4 aufgetrennt wurden. Zum Vergleich mit den Abläufen in vivo war bei Versuch III zu den entsprechenden Zeiten Blut von 1 Tier gewonnen worden.

4.6.2 Ergebnisse

Die Ergebnisse dieses Versuchs vermitteln den größten Aufschluß, wenn der Anstieg der β -Carotin-Menge in den einzelnen Fraktionen zur Ausgangsmenge vor der β -Carotin-Gabe in Bezug gesetzt wird (Abb. 10). Auf diese Weise wird die sehr unterschiedliche Bindungskapazität der Fraktionen berücksichtigt.

Die Ergebnisse in vitro und in vivo unterscheiden sich qualitativ wenig. Der Abbildung 10 ist zu entnehmen, daß sich die an VLDL gebundene β -Carotin-Menge sprunghaft erhöht. Im Gegensatz zu den anderen Fraktionen kann sie ihren β -Carotin-Gehalt jedoch im weiteren Verlauf nicht erhöhen, sondern verliert sogar wieder einen Teil. In vivo ist dies noch deutlicher zu beobachten. HDL nimmt zwar mengenmäßig, entsprechend seiner Kapazität als größte Lipoproteinfraktion des Rindes, am meisten β -Carotin auf, doch erfolgt hier der Bindungsvorgang langsamer als bei VLDL und LDL. Die raschere

Assoziation von β -Carotin mit den beiden leichteren Lipoproteinen resultiert in einer Verschiebung des Verteilungsmusters zu ungunsten von HDL, was sich erst im Laufe der Zeit durch zunehmende Bindung an HDL ändert (Tab. 8). Dies ist auch in den Versuchen II und III zu erkennen. Im in vitro-Versuch ist die β -Carotin-Aufnahme von HDL und LDL deutlich

Tab. 8: β -Carotin-Konzentration im Serum und Verteilung auf die Lipoproteine vor (0) und nach (5', 2h) der Gabe von β -Carotin in vivo and in vitro ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)

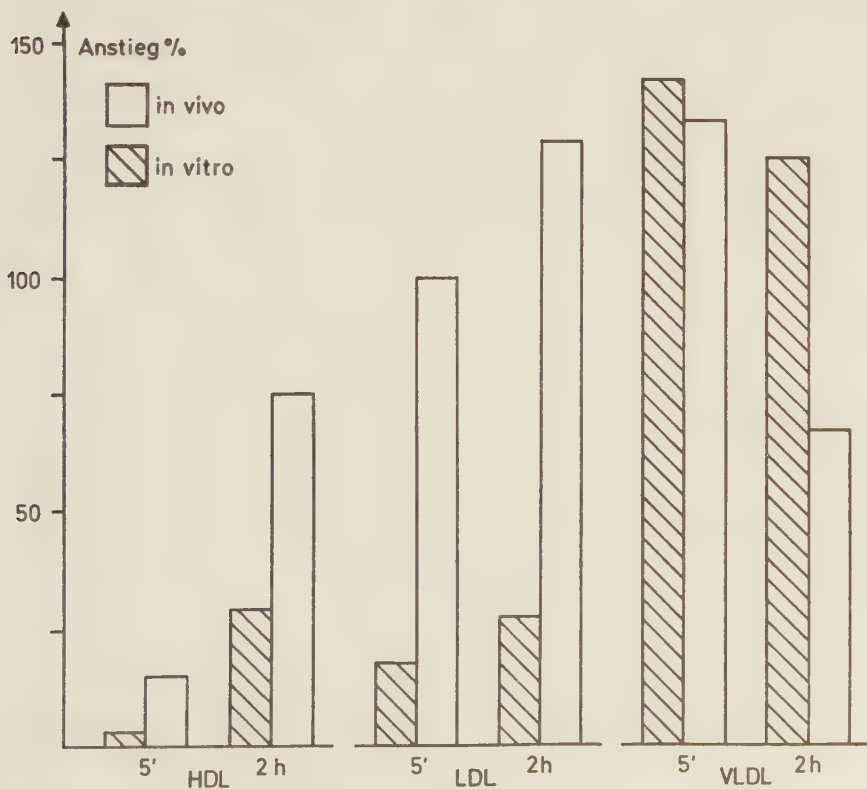
	in vivo			in vitro		
	0	5'	2h	0	5'	2h
Serum	102	496	218	374	1100	1100
HDL	89	102	156	332	342	427
a	93	87	90	93	92	93
b		+15	+75		+3	+29
LDL	7	14	16	22	26	28
a	7	12	9	6	7	6
b		+100	+129		+18	+27
VLDL	0.3	0.7	0.5	1.2	2.9	2.7
a	0.3	0.6	0.3	0.3	0.8	0.6
b		+133	+67		+142	+125

a: % der Serumkonzentration

b: % Zuwachs gegenüber der Ausgangsmenge

geringer, aber in der Tendenz stimmen die Ergebnisse überein. In Anbetracht der Tatsache, daß nach 2 Stunden der Serumspiegel in vivo schon wieder weit gesunken ist, fällt besonders auf, daß in vivo, trotz des geringeren Angebotes, relativ mehr β -Carotin gebunden wird als in vitro.

Abb. 10: Prozentualer Anstieg der β -Carotin-Menge in den Lipoproteinen des Serums gegenüber der Ausgangsmenge vor der β -Carotin-Applikation (Nulllinie)



5 DISKUSSION

5.1 Zeitlicher Verlauf der β -Carotin-Spiegel in Blut und Milch

Die β -Carotin-Blutspiegelkurven verliefen bei allen Versuchen mit β -Carotin-Gabe (II, III, V) wie es für die entsprechende Applikationsform zu erwarten war. Warum die Applikation über die Duodenalfistel weder zur Erhöhung des β -Carotin- noch des Vitamin A-Blutspiegels führte, ist nicht zu erklären. Zwar ist bekannt, daß β -Carotin aus ölicher Lösung beim Rind nicht sehr gut resorbiert wird (THOMPSON, 1961), doch wäre bei der Höhe der applizierten Dosis selbst bei geringer Resorptionsrate noch eine meßbare Blutspiegelerhöhung zu erwarten gewesen. Lipide sind vom Wiederkäuer auch bei duodenaler Gabe resorbierbar (HEATH & MORRIS, 1962; MOORE et al., 1969). Es ist daher unwahrscheinlich, daß die gesamte applizierte Lösung unverdaut den Darm passieren konnte, zumal auch keine Färbung des Kotes, wie in Versuch V, zu beobachten war.

Das langsame Absinken des Blutspiegels von β -Carotin ist typisch für Tierarten, die physiologischerweise Carotine im Blut mitführen. Dagegen ist intravenös injiziertes β -Carotin beispielsweise aus dem Blut von Ratten und Kaninchen innerhalb von 24 Stunden eliminiert (KON et al., 1955). BJORNSON et al. (1976) vermuten als möglichen Grund für das langsame Absinken des β -Carotin-Spiegels beim Menschen, daß β -Carotin wegen seiner apolaren Eigenschaften kaum zwischen Lipoproteinen und Gewebe ausgetauscht wird, und damit langsamer umgesetzt werden kann als beispielsweise Tocopherol. Voraussetzung für diese Erklärung ist allerdings die Fähigkeit der Lipoproteine, β -Carotin stabil an sich zu binden. Diese Fähigkeit könnte Ratte und Kaninchen fehlen, was die raschere Elimination bei diesen Tieren erklären würde.

Eine auffällige Abweichung vom üblichen Verlauf der Konzentrationskurven nach i.v.-Applikationen stellt die nochmalige Erhöhung des Blutspiegels 4 Stunden p. inj. dar. KON et al. (1955), die dieses Phänomen in ihren Versuchen mit Kälbern ebenfalls finden, jedoch nicht bei Ratte und Kaninchen, kommen zu dem Schluß, daß bestimmte Gewebe des Kalbes das β -Carotin zunächst an sich binden und erst verzögert freisetzen. Tatsächlich finden die Autoren eine deutliche Anreicherung von β -Carotin in der Lunge, ohne jedoch diesem Organ die vorübergehende Speicherfunktion zuzuschreiben.

Die Existenz eines β -Carotin-fixierenden Gewebes kann gut mit dem Verlauf der Lipoproteinbindungskurve des i.v.-Versuches in Verbindung gebracht werden. Nach dem ersten Anstieg der lipoproteingebundenen β -Carotin-Menge, unmittelbar nach der Injektion, bleibt diese Menge über die erste Stunde bei einem Wert von etwa 160 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Im gleichen Zeitraum verschwindet das freie β -Carotin fast völlig aus dem Blut. Da es nicht von den Lipoproteinen gebunden wird, kann es also nur entweder abgebaut worden sein, was auch die Konversion zu Vitamin A beinhaltet, oder aber ein Gewebe hat es fixiert. Der erneute β -Carotin-Anstieg im Blut setzt voraus, daß zumindest ein Teil reversibel gespeichert wurde. Die Lipoproteine sind zwar nicht in der Lage, mehr freies β -Carotin direkt aus dem Blut an sich zu binden, als sie dies schon sofort nach der β -Carotin-Injektion tun, aber sie können es aus dem Ort seiner ersten Bindung mobilisieren und dem Blutkreislauf wieder zuführen. Dieser Schluß gründet auf der Zunahme der Lipoproteinbindung von 200 auf 300 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ab der 2. Stunde p. inj. und dem damit verbundenen erneuten Serumspiegelanstieg. Besonders die HDL-Fraktion ist an dieser Remobilisierung beteiligt. Die Bindung von β -Carotin an Lipoproteine scheint demnach große Bedeutung für den Verlauf der β -Carotin-Konzentration im Blut des Rindes zu haben.

Wegen der kontinuierlichen Freisetzung von β -Carotin aus der Injektionsstelle und der weiteren Zeitintervalle bei der Probenentnahme sind bei der i.m.-Applikation diese Vorgänge nicht in gleicher Weise darstellbar.

Ein Anstieg der β -Carotin-Konzentration in der Milch konnte sowohl nach oraler, wie parenteraler Applikation beobachtet werden. Er erfolgte zwar von Anfang an kontinuierlich, doch erreichte die β -Carotin-Menge in der Milch ihr Maximum in allen 3 Versuchen erst nach dem Erreichen des maximalen Blutspiegels. Die Verzögerung beträgt im per os-Versuch 2 Tage, wie auch im i.v.-Versuch, wenn bei diesem das aussagekräftigere zweite Blutmaximum nach 32 Stunden berücksichtigt wird. Im i.m.-Versuch kam das Maximum in der Milch zwar nicht zur Messung, doch zeichnet sich hier ein ähnlicher Verlauf ab. Die mit Fütterung und intravenöser Injektion erzielten Steigerungen der β -Carotin-Spiegel entsprechen am Maximum in Blut und Milch jeweils etwa einer Verdreifachung des Ausgangswertes, was trotz der zeitlichen Verschiebung auf die Abhängigkeit von Blut- und Milchspiegel hinweist (STAMPFER & ZUCKER, 1983). Die zeitliche Diskrepanz läßt sich nicht dadurch klären, daß man die Lipoproteinbindung mit der Verzögerung der Sekretion in die Milch in Zusammenhang zu bringen versucht. Denn weder die Gesamtbindungskurven aller Lipoproteine, noch die der einzelnen Lipoproteinfraktionen sind mit dem Verlauf des Milchspiegels vergleichbar. Die Lipoproteinbindung erfolgt bedeutend schneller als die Abgabe von β -Carotin in die Milch. Da auch bei oraler Zufuhr eine Verzögerung eintritt, also bei physiologischer Aufnahme von β -Carotin über den Darm, ist die Ursache nicht in den Eigenschaften des Injektionspräparates zu suchen. Auch aus den Ergebnissen von THOMPSON (1961) läßt sich das Auftreten dieser Verzögerung bei oraler Supplementierung ableiten.

Es liegt nahe, Vorgänge im Euter selbst als Grund des verzögerten β -Carotin-Transfers anzusehen. SCHWEIGERT (1986) geht von der Überlegung aus, daß zumindest während der Kolostralphase der Hauptteil des β -Carotins über die LDL-Fraktion in die Milch gelangt. β -Carotin würde auf diesem Weg ohne Schwierigkeiten mit seinem Vehikel die Blutgefäßwand und den extrazellulären Flüssigkeitsraum überbrücken und unter Vermittlung der LDL-Rezeptoren in die Milchdrüsenzelle gelangen. Für den Transport lipophiler Substanzen im wäßrigen Medium des Cytosols sind Transportsysteme vorhanden, die teilweise spezifisch bestimmte Substanzen binden. Solche spezifischen Transportproteine wurden in Zellen verschiedener Gewebe für Sterine (GLOVER & GREEN, 1957), langkettige Fettsäuren (OCKNER & MANNING, 1974), Tocopherol (RAJARAM et al., 1974), Vitamin A (CHYTIL & ONG, 1979) und auch für bestimmte Carotinoide (GANGULY et al., 1959) nachgewiesen. Die Fähigkeit des Rindes zur selektiven Resorption und zur Ausscheidung in der Milch, im Gegensatz beispielsweise zur Ziege, die auch injiziertes β -Carotin nicht in die Milch sezerniert (PATTON & JENSEN, 1976), sowie die zunehmend gesicherte Bedeutung für die Follikelreifung beim Rind (SCHWEIGERT et. al., 1986), läßt die Existenz eines spezifischen Bindungsproteins für β -Carotin in den Zellen des Rindes denkbar erscheinen. OCKNER und MANNING (1974) stellten fest, daß die Zahl dieser Proteine, und damit die Transportrate durch die Zelle, von der angebotenen Menge ihres Substrates reguliert wird. Neben der Erleichterung von Diffusionsprozessen durch Aufbau eines Konzentrationsgradienten an der Innenseite der Zellmembran, diskutieren sie auch die mögliche Funktion als Rezeptoren an der Zelloberfläche. Durch Annahme eines substratgeregelten Transportmechanismus zum Ort der Milchfettsynthese oder zur apikalen Drüsenzellwand (s. 2.1.4) würde sich erklären, daß der Erhöhung des Blutspiegels der Anstieg der Milchkonzentration erst mit zeitlicher

Verzögerung folgt. Die von ZUCKER et al. (1980) bei einem Milchspiegel von 35-40 µg/100 ml beobachtete Plateaubildung trotz steigender Blutkonzentration könnte dann durch die Hemmung einer weiteren Vermehrung der Transportproteine durch negative Rückkoppelung bedingt sein.

Geht man davon aus, daß β -Carotin über die Hülle der Milchfettkügelchen in die Milch sezerniert wird (s. 2.1.4), ergibt sich noch eine andere mögliche Ursache für die Verzögerung. Wenn β -Carotin bereits am Ort der Membransynthese, dem endoplasmatischen Retikulum, in die entstehende Plasmamembran integriert wird, gelangt es erst mit dem Membranfluß, entsprechend der Austauschrate der Zelloberfläche, zur apikalen Drüsenzellseite, um dort auf das Milchfettkügelchen übertragen zu werden (PATTON & JENSEN, 1976). Tatsächlich finden PATTON und Mitarbeiter (1980) sehr viel β -Carotin innerhalb der Milchdrüsenzelle mit Endomembranen assoziiert. Sie halten die membrangebundene Menge jedoch nicht für ausreichend als wesentliche Quelle für die gesamte β -Carotin-Sekretion.

5.2 Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen

5.2.1 Verteilung beim laktierenden Rind

Die Verteilung von β -Carotin auf die Lipoproteinfractionen stimmt bei allen Versuchen mit laktierenden Rindern, in denen dies untersucht wurde (II, III, IV), mit den Ergebnissen von SCHWEIGERT et al. (1987) überein (Abb. 11). In den Versuchen II und III kommt es, bedingt durch die parenterale Zufuhr von β -Carotin, vorübergehend zu einer Verschiebung der Verteilungsverhältnisse, die nachfolgend noch besprochen wird.

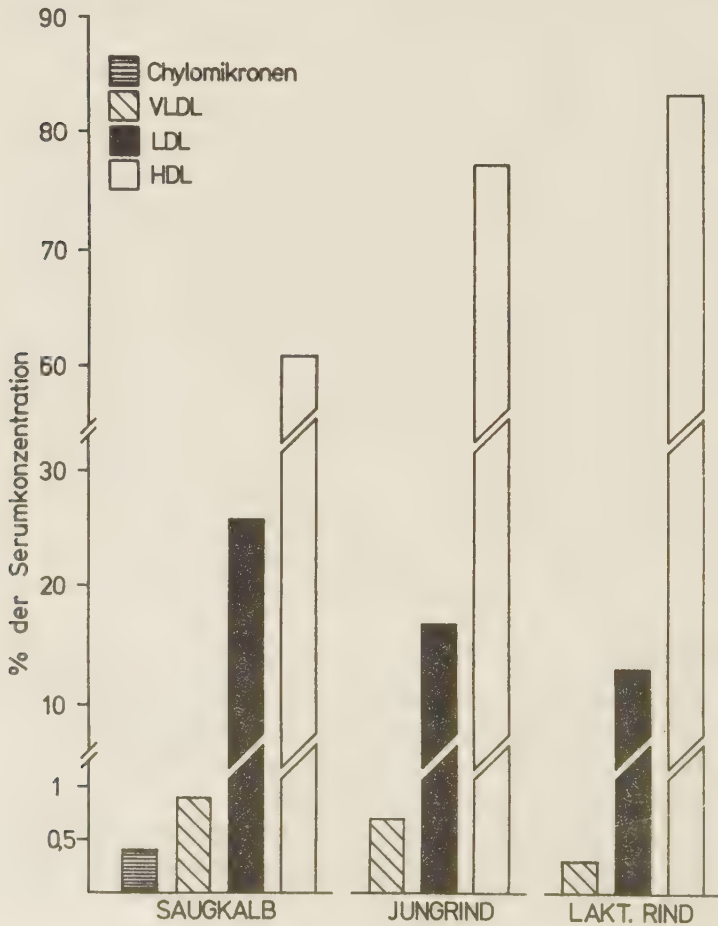
In beiden Fällen stellt sich die Ausgangsverteilung auch bei höheren β -Carotin-Serumspiegeln wieder ein. Dies entspricht den Befunden in der Literatur, die besagen, daß das Verteilungsmuster von β -Carotin auf die Lipoproteine unabhängig von der Höhe des β -Carotin-Blutspiegels ist (MATHEWS-ROTH & GULBRANDSEN, 1974; KURZ et al., 1984, SCHWEIGERT et al., 1987). Aus Versuch IV geht hervor, daß das Verteilungsmuster beim einzelnen Tier auch über längere Zeiträume, in diesem Fall 7 Tage, konstant bleibt.

5.2.2 Verteilung beim Jungrind

Im Blut der untersuchten Jungrinder findet sich eine andere Verteilung als beim laktierenden Rind. Der Anteil von VLDL (0,7 %) und LDL (17 %) am β -Carotin-Transport ist deutlich erhöht, der HDL-Anteil (77 %) erniedrigt. Bezieht man in einen Vergleich noch die Verteilung beim Saugkalb mit ein (SCHWEIGERT et al., 1987), so ergibt sich für das Jungrind hinsichtlich der β -Carotin-Verteilung eine Mittelstellung, wie Abbildung 11 zeigt. Die Werte des Jungrindes unterscheiden sich signifikant ($p < 0.05$, Scheffé-Test) von denen des laktierenden Rindes. Da die Ergebnisse dieser Autoren nach derselben Methode wie die vorliegenden Daten gewonnen wurden, sind sie sehr gut miteinander vergleichbar.

Von SCHWEIGERT et al. (1987) wurde auch die Verteilung bei Kühen während des Trockenstehens ante partum untersucht und folgende Verteilung festgestellt: VLDL 0.7 %, LDL 16 %, HDL 80 %. Gegenüber der Laktationsperiode ist auch hier in der VLDL- und LDL-Fraktion mehr β -Carotin zu finden, während HDL prozentual weniger bindet. Die Autoren weisen darauf hin, daß die Verteilung von der vorhandenen Menge der einzelnen

Abb. 11: Prozentuale Verteilung von β -Carotin beim Rind in verschiedenen Lebensabschnitten (Daten von Kalb und laktierender Kuh nach SCHWEIGERT et al., 1987)



Lipoproteine abhängt. Dieser Zusammenhang ist sowohl beim Kalb, das über bedeutend höhere VLDL- und LDL-Mengen verfügt (BAUCHART & LEVIEUX, 1985), als auch bei der trockenstehenden Kuh zu erkennen. Mit dem Trockenstellen entfällt der VLDL-Katabolismus zur MilCHFettbildung, was in einer Verdoppelung bis Verdreifachung der VLDL-Menge resultiert (RAPHAEL et al., 1973a). Das erwachsene Jungrind entspricht in seinem Lipoproteinstoffwechsel eher der trockenstehenden Kuh, da auch bei ihm der starke Einfluß der Milchbildung auf den Lipoproteinstoffwechsel fehlt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß sich die β -Carotin-Verteilungsmuster bei Jungrind und nicht-laktierender Kuh sehr ähneln.

5.2.3 Zeitlicher Verlauf der Verteilung nach Applikation von β -Carotin parenteral und in vitro.

CORNWELL et al. (1962) beschreiben den zeitlichen Verlauf der β -Carotin-Verteilung nach oraler Zufuhr beim Menschen: Entsprechend dem Stoffwechselweg der Lipoproteine steigt zunächst der β -Carotingehalt in Chylomikronen und VLDL, da diese beiden Fraktionen zum Abtransport resorbierter Lipide im Darm gebildet werden. Chylomikronen werden innerhalb weniger Minuten in der Leber oder den Geweben abgebaut und ihre Bestandteile, sofern sie nicht verbraucht werden, in der Leber zur VLDL-Synthese herangezogen. Nach einer kurzen Lebenszeit von wenigen Stunden geht VLDL in LDL über. Damit verlagert sich der β -Carotin-Gehalt der VLDL-Fraktion zunächst teilweise in die LDL-Fraktion. Da HDL einen eigenständigen Stoffwechselweg besitzt und β -Carotin vermutlich nur in geringem Umfang zwischen den Fraktionen ausgetauscht wird (CORNWELL et al., 1962; BJORNSEN et al., 1976), müßte HDL seinen β -Carotin-Anteil entweder bei der Synthese in der

Leber erhalten, oder ihn nach und nach durch Aufnahme aus dem Blut erwerben. Wegen der langen Halbwertszeit von mehreren Tagen ist die Resyntheserate von HDL gering. Der β -Carotin-Anstieg in dieser Fraktion erfolgt verzögert.

Während bei oraler Zufuhr das β -Carotin von Anfang an in Lipoproteine inkorporiert ist und nur in kleinsten Mengen beim Abbau der Trägerlipoproteine frei wird, muß sich der Organismus bei parenteraler Gabe mit großen Mengen nicht-lipoproteingebundenen β -Carotins auseinandersetzen. Es fehlt die Darmwandpassage, die β -Carotin in den Lipoproteinstoffwechsel integriert. Bekanntlich sind Lipoproteine auch nach ihrer Bildung noch in der Lage, lipophile Substanzen aufzunehmen. So findet in vivo und in vitro ein Austausch von freiem Cholesterin und Phospholipiden sowie von Tocopherol statt (KUNKEL & BEARN, 1954; EISENBERG & LEVY, 1975; BJORNSEN et al., 1976). JONAS (1979) beschreibt die direkte Aufnahme großer Mengen von Phospholipiden und Cholesterin in vitro durch bovines HDL. Die in Versuch VI beobachtete Bindung von β -Carotin an die Lipoproteine in vitro ist also für lipophile Substanzen nicht ungewöhnlich. Mit Durchmesser und Triglyceridgehalt der Lipoproteine steigt in Versuch VI die prozentuale Zunahme von β -Carotin in den Fraktionen an. Dies könnte bedeuten, daß die Bindung von Durchmesser und Lipidzusammensetzung der Lipoproteine beeinflußt wird.

Aufgrund der Apolarität des β -Carotin-Moleküls kann, bei Annahme einer unspezifischen Bindung an die Lipoproteine, deren Gehalt an Neutralfetten von Bedeutung sein. JONAS (1979) ist der Meinung, daß der Austausch bzw. die Aufnahme von Lipiden eine Frage ihrer Affinität zu den Lipoproteinbestandteilen ist. Die Ergebnisse in den Versuchen II, III und VI sprechen dafür, daß sich freies β -Carotin rascher an die lipidreichen Fraktionen bindet. So stehen beispielsweise

einer Vervierfachung der ursprünglich an HDL gebundenen β -Carotin-Menge im i.m.-Versuch 10 Stunden p. inj. eine Verzehnfachung in LDL und ein Anstieg der Ausgangsmenge in VLDL um das 66-fache gegenüber. Verglichen mit dem sprunghaften Anstieg der β -Carotin-Menge in VLDL/LDL, erfolgt die Bindung an HDL zwar kontinuierlich aber langsamer. Die geringere Lipidaffinität beeinträchtigt nur die Bindungsgeschwindigkeit. Die beträchtlich größere Menge HDL gegenüber den anderen Fraktionen im Blut des Rindes führt aber doch zur Bindung des meisten β -Carotins an diese Fraktion. Es ist vorstellbar, daß die Bindung dieser großen β -Carotin-Mengen an HDL durch spezifische Bindungsformen unterstützt wird, wie KRINSKY et al. (1958) sie vermuten.

Die quantitativen Unterschiede zwischen den Ergebnissen in vitro und in vivo bei Versuch VI zeigen, daß die β -Carotin-Bindung im lebenden Organismus neben der Lipidaffinität, die die Bindung beim ersten Kontakt zu bestimmen scheint, noch durch andere Faktoren beeinflusst werden muß. Einer davon ist die Lebenszeit der Lipoproteine, deren Einfluß schon angesprochen wurde. Abgesehen von geringem Zerfall, der die Abnahme von β -Carotin nach 2 Stunden in der empfindlicheren VLDL-Fraktion erklären könnte, bleibt der Lipoproteinbestand in vitro weitgehend unverändert, zumal da enzymatische Vorgänge durch EDTA-Zugabe eingeschränkt wurden. Dagegen unterliegt der Lipoproteinbestand im Organismus ständigen Abbau- und Resynthesevorgängen. Besonders betroffen ist davon die VLDL-Fraktion, die beim laktierenden Rind schon nach einigen Minuten metabolisiert ist (PALMQUIST & MATTOS, 1978). Die LDL-Fraktion, die aus VLDL hervorgeht, vermehrt das von ihr selbst gebundene β -Carotin durch β -Carotin aus der VLDL-Fraktion. Da in Versuch VI in vivo nach 2 Stunden nur noch wenig freies β -Carotin vorhanden ist, das von neugebildetem

VLDL im Blut aufgenommen werden könnte, fällt der β -Carotin-Gehalt von VLDL zu diesem Zeitpunkt schon wieder deutlich ab. HDL und LDL können dagegen durch ihre längere Lebensdauer den β -Carotingehalt kontinuierlich erhöhen. Der Kurvenverlauf in den Versuchen II und III könnte sich also so erklären, daß bei Auftreten von freiem β -Carotin, die Lipoproteine dieses zunächst, in einer ersten Phase, entsprechend der Affinität ihrer Lipide binden. Bei abnehmendem Gehalt von freiem β -Carotin im Blut oder Sättigung der unspezifischen Bindungskapazität der Lipoproteine gelingt es dem Organismus, unterstützt durch Elimination und Neusynthese von Lipoproteinen, die Verteilung nach und nach wieder aktiv zu steuern, wobei langsamere spezifische Bindungsformen eine Rolle spielen können. In beiden Versuchen (II und III) finden sich normalisierte Bindungsverhältnisse, nachdem das freie β -Carotin fast völlig verschwunden ist.

5.3 Zeitlicher Verlauf der Vitamin A-Spiegel in Blut und Milch

Nach parenteraler β -Carotin-Applikation (Versuch II, III) konnte keine Erhöhung der Vitamin A-Konzentration im Blut festgestellt werden. Diesem Befund zufolge findet im Organismus des Rindes außerhalb der Darmmukosa keine β -Carotin-Umwandlung statt, die mengenmäßig geeignet wäre, den Vitamin A-Spiegel des Blutes zu beeinflussen. Die Ergebnisse in der Literatur zu dieser Fragestellung sind widersprüchlich, doch wird angenommen, daß Tiere, die physiologischerweise Carotinoide im Blut transportieren, weniger zur Konversion außerhalb des Darmes fähig sind (CHURCH et al., 1954; KON et al., 1955). Daß eine Konversion im kleinen, nicht meßbaren Umfang stattfindet, kann natürlich nicht ausgeschlossen werden.

Bei Versuchen mit Vitamin A-Mangeltieren wurde festgestellt, daß sich Mangelsymptome durch Injektion von β -Carotin ohne nachweisbare Erhöhung des Vitamin A-Blutspiegels beheben ließen (Übersicht bei OWEN, 1965). Dies könnte darauf beruhen, daß die Gewebe für ihren Eigenbedarf Vitamin A aus der lokalen β -Carotin-Spaltung gewinnen. (GAWIENOWSKI et al., 1974; PETO et al., 1981; SKLAN, 1983; SCHWEIGERT et al., 1986).

Die orale Gabe von β -Carotin bewirkte gleichzeitig mit dem Anstieg der β -Carotin-Konzentration auch eine Erhöhung des Vitamin A-Spiegels im Blut, wenngleich diese mengenmäßig für das Tier nicht von Bedeutung sein dürfte. Die Erhöhung des Vitamin A-Spiegels steht mit der β -Carotin-Resorption in enger Beziehung. Das β -Carotin-Maximum, einen Tag nach der letzten β -Carotin-Gabe, zeigt den Zeitpunkt an, ab welchem die Resorption aus dem Darm wieder abnimmt. Da nun weniger Provitamin in die Darmwand gelangt, verringert sich die Vitamin A-Bildung und damit der Serumspiegel. Warum es trotz der Homöostase für Vitamin A im Blut zu einer deutlichen Schwankung des Vitamin A-Spiegels in Blut und Milch kommen kann, läßt sich folgendermaßen erklären: Aus β -Carotin im Darm gewonnenes Vitamin A gelangt zunächst als Retinylester, an Lipoproteine gebunden, ins Blut (CHANDA, 1953a). Da die Regulation des Vitamin A-Blutspiegels aber am Vitamin A-Alkohol und seinem Trägerprotein (RBP) angreift, kann die β -Carotin-Zufuhr den Vitamin A-Gesamtblutspiegel anheben. Die Retinylester treten leicht in die Milch über, weshalb auch der Milchspiegel unmittelbar nach der oralen β -Carotin-Zufuhr erhöht ist (CHANDA, 1953a; VAHLQUIST & NILSSON, 1979). Da Retinylester nur kurze Zeit im Blut zirkulieren (die Leber nimmt sie zur Speicherung auf), erhöht sich der Vitamin A-Spiegel des Blutes weniger als der β -Carotin-Gehalt, und fällt mit Unterbrechung der β -Carotin-Supplementierung sofort

wieder ab. Auch in der Milch verschwindet eine, auf der Retinylester-Bildung beruhende, Erhöhung des Vitamin A-Spiegels so rasch wie sie entstanden war. An dieser Stelle sei daran erinnert, daß in den vorliegenden Untersuchungen alles Vitamin A, bedingt durch die Probenaufbereitung, als Retinol nachgewiesen wurde. Zur Absicherung der obigen Erklärung für die Schwankungen im Vitamin A-Gehalt von Blut und Milch müßte eine getrennte Analyse der Vitamin A-Formen erfolgen. Die unmittelbare Auswirkung einer β -Carotin-Supplementierung auf den Vitamin A-Gehalt der Milch wird auch von THOMPSON (1961) und GOYAL et al. (1984) beschrieben.

Eine Erklärung des erneuten Anstiegs in Blut und Milch ist nicht möglich, doch findet sich eine nochmalige Erhöhung des Vitamin A-Spiegels im Blut auch in den Oralversuchen von KON et al. (1955). Ausgehend von der Überlegung, daß nach Abschluß der β -Carotin-Resorption keine Vitamin A-Bildung in größerem Umfang mehr möglich ist, muß es sich bei dieser Erhöhung um eine Freisetzung von Vitamin A aus Speichern handeln. OWEN (1965) diskutiert die Möglichkeit, daß bei Unterbrechung der β -Carotin-Zufuhr über Thyroxin eine Freigabe von Vitamin A aus den Leberspeichern bewirkt wird. Im vorliegenden Versuch lägen jedoch Ursache und Wirkung für diese Theorie zeitlich zu weit auseinander. Gegenüber der geringen Erhöhung des bereits hohen Vitamin A-Gehaltes im Blut, stellt die Zunahme in der Milch mehr als eine Verdoppelung des ebenfalls hohen Ausgangswertes dar. Dieser Befund stimmt mit der Beobachtung von ZUCKER et al. (1980) überein, daß hohe Vitamin A-Blutspiegel durch Zufuhr von β -Carotin nicht weiter erhöht werden, während sich die Ausscheidung in der Milch noch steigern läßt.

In beiden Versuchen mit parenteraler Applikation von β -Carotin erhöht sich der Vitamin A-Spiegel der Milch ohne sichtbaren Einfluß des Blutspiegels. Ähnliche Beobachtungen waren ein Grund für BRÜGGEMANN und NIESAR (1955), nach einem Mechanismus im Euter zu suchen, der für eine lokale Vitamin A-Bildung verantwortlich sein könnte. Ihnen gelang der Nachweis von Carotinase-Aktivität in der Milchdrüse. Unter physiologischen Bedingungen wird dieser Möglichkeit einer Vitamin A-Anreicherung der Milch wohl wenig Bedeutung zukommen. Etwa 90 % des Milchgehaltes an Vitamin A werden beim Rhesus-Affen vom Blut-Retinol abgeleitet (VAHLQUIST & NILSSON, 1979). Durch rezeptorvermittelten aktiven Transport sind auch Anreicherungsvorgänge gegenüber dem Blutgehalt vorstellbar, die bei Annahme des älteren, reinen Diffusionsmodells für den Vitamin A-Übertritt (SOBEL et al., 1952) nicht erklärbar wären. Da beim i.v.-Versuch kein erhöhter Vitamin A-Gehalt im Blut erscheint, der den Anstieg in der Milch begründen würde, muß die ansteigende β -Carotinmenge in der Milch entweder einen vermehrten Übertritt von Vitamin A aus dem Blut induzieren können, oder selbst zur lokalen Vitamin A-Gewinnung nutzbar sein. Auf einem dieser Wege war durch die einmalige intravenöse Injektion von 100 mg β -Carotin bei gleichbleibendem Vitamin A-Blutspiegel eine Verdoppelung der Konzentration in der Milch möglich. Der nach oraler β -Carotin-Gabe beschriebenen überproportionalen Zunahme des Vitamin A-Milchspiegels gegenüber dem Serumspiegel liegen vermutlich dieselben Ursachen zugrunde.

5.4 Schlußfolgerung

Parenterale Applikation von β -Carotin führt, wie die orale Zufuhr, zur Verteilung auf die Serumlipoproteine, wenn auch zunächst nach einem anderen Verteilungsmuster. Die lipidreichen Lipoproteinfraktionen werden anfangs vermehrt beladen.

Die Sekretion in die Milch zeigt, daß auch parenteral verabreichtes β -Carotin vom Organismus des Rindes genutzt werden kann.

Die durch die β -Carotin-Injektion ausgelöste Erhöhung der Vitamin A-Konzentration in der Milch, ohne Anstieg des Serumspiegels, weist auf eine lokale Carotinase-Aktivität im Euter hin, oder aber auf eine Induktion von vermehrtem Vitamin A-Transfer aus dem Blut durch erhöhte β -Carotin-Spiegel.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Das Verhalten von β -Carotin und Vitamin A in Blut und Milch der Kuh bei parenteraler Applikation, sowie die Verteilung auf die Lipoproteine beim Jungrind wurden untersucht, um Aufschluß über den Transport und die Nutzung von β -Carotin im Organismus des Rindes zu erhalten.

Die Lipoproteinfraktionen wurden durch selektive Ausfällung und Ultrazentrifugation gewonnen. β -Carotin wird im Blut des Jungrindes zu 77 % von HDL transportiert. LDL bindet 17 % und VLDL 0,7 %. Diese Verteilung ist unabhängig von der Höhe des Blutspiegels.

Die parenterale Applikation von β -Carotin bei Kühen führte vorübergehend zu einer Verschiebung der Verteilung auf die Lipoproteine zugunsten der lipidreichen Fraktionen (VLDL, LDL). Dies beruhte vermutlich auf der raschen Bindung an diese beiden Fraktionen, aufgrund der lipophilen Eigenschaften von β -Carotin. Die an HDL gebundene Menge steigt langsam, aber kontinuierlich an. In vitro ließen sich diese Beobachtungen im wesentlichen nachvollziehen. Zwei Stunden nach der intravenösen Injektion von β -Carotin kam es zu einem nochmaligen deutlichen Anstieg des Serumspiegels. Dies deutet darauf hin, daß β -Carotin offensichtlich in einem Gewebe gebunden und erst später wieder freigesetzt wird. Die Bindung durch HDL scheint ursächlich mit der Remobilisierung aus dem Gewebe verknüpft zu sein. Als Erklärung für den Verlauf der Verteilung sind neben Lipidaffinität und Stoffwechsel der Lipoproteine auch spezifische Bindungsmechanismen zu diskutieren.

Durch die parenterale Applikation kann die β -Carotin-Konzentration in der Milch gesteigert werden. Der Organismus ist also auch ohne die physiologische Aufnahme über den Darm zur Nutzung von β -Carotin in der Lage.

Die maximale Ausscheidung von β -Carotin in der Milch erfolgte mit einer Verzögerung von 2 Tagen gegenüber dem maximalen Blutspiegel. Da kein Einfluß der Lipoproteinbindung erkennbar ist, müssen Vorgänge beim Transport von β -Carotin aus dem Blut in die Milch, innerhalb der Milchdrüsenzelle selbst, Ursache dieser Verzögerung sein.

β -Carotin erhöhte bei parenteraler Applikation trotz gleichbleibenden Vitamin A-Spiegels im Blut die Vitamin A-Konzentration in der Milch.

SUMMARY

β -CAROTENE AND VITAMIN A IN BLOOD AND MILK OF CATTLE FOLLOWING PARENTERAL AND ORAL ADMINISTRATION OF β -CAROTENE

Serum lipoproteins were isolated by selective precipitation with dextran sulfate combined with ultracentrifugation.

In young cattle 77 % of serum β -carotene was transported by HDL, 17 % by LDL and 0,7 % by VLDL. This distribution was independent of β -carotene concentration in blood.

There was a transient change in binding proportions in cows following parenteral administration of β -carotene. In the beginning the lipoproteins rich in lipids (VLDL, LDL) bound β -carotene more readily than HDL, presumably due to the apolarity of β -carotene. The amount of HDL-bound β -carotene rose slowly but steadily. Results in vitro essentially confirmed these findings.

Two hours after intravenous injection of β -carotene a secondary rise in blood carotene occurred. This indicates the existence of a tissue in the cow where β -carotene is initially stored. HDL-binding seems to be involved in releasing β -carotene from this primary site of deposition.

Affinity for lipids, metabolism of lipoproteins and also specific binding mechanisms could be responsible for the changes in distribution of β -carotene among the lipoproteins.

The concentration of β -carotene in milk was increased by the parenteral administration. Without passing through the intestinal wall, β -carotene was bound to the lipoproteins and utilized in the organism of the cow.

Maximum levels of β -carotene in milk were reached two days after the maximum of β -carotene in blood. This delay was observed following oral and intravenous administration and was not caused by changes in the binding to lipoproteins. The process of transfer from blood to milk within the mammary cell itself must be the reason for this delay.

Though parenteral administration of β -carotene did not influence blood vitamin A, it did raise the concentration of vitamin A in milk.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- AHLSWEDE, L. und K.-H. LOTTHAMMER (1978)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung
des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes.
5. Mitteilung: Organuntersuchungen (Ovarien, Corpora Lutea, Leber,
Fettgewebe, Uterussekret, Nebennieren) - Gewichts- und Gehalts-
bestimmungen
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **85**, 7-12
- ARBEITER, K., E. KNAUS und M. THURNHER (1983)
Repetitionstest über die Genitalfunktionen von Rindern in
Abhängigkeit vom β -Carotiningehalt im Blut
Zbl. Vet. Med. A. **30**, 206-213
- ASCARELLI, I., Z. EDELMAN, M. ROSENBERG and Y. FOLMAN (1985)
Effect of dietary carotene on fertility of high-yielding dairy cows
Anim. Prod. **40**, 195-207
- ASHES, J.R., R.W. BURLEY, G.S. SIDHU and R.W. SLEIGH (1984)
Effect of particle size and lipid composition of bovine blood high
density lipoprotein on its function as a carrier of β -carotene
Biochim. Biophysic. Acta **797**, 171-177
- BARRY, J.M., W. BARTLEY, J.L. LINZELL and D.S. ROBINSON (1963)
The uptake from the blood of triglyceride fatty acids of chylomicra
and low-density lipoproteins by the mammary gland of the goat
Biochem. J. **89**, 6-11
- BAUCHART, D. et D. LEVIEUX (1985)
Lipoprotéines plasmatiques du veau préruminant
Reprod. Nutr. Dévelop. **25**, 243-250
- BINDAS, E.M., F.C. GWAZDAUSKAS, R.J. AIELLO, J.H. HERBEIN, M.L. MCGILLIARD
and C.E. POLAN (1984)
Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle
supplemented with β -carotene
J. Dairy Sci. **67**, 1249-1255
- BISHOP, C., T. DAVIES, R.F. GLASCOCK and V.A. WELCH (1969)
Studies on the origin of milk fat. A further study of bovine serum
lipoproteins and an estimation of their contribution to milk fat
Biochem. J. **113**, 629-633
- BJORNSON, L.K., H.J. KAYDEN, E. MILLER and A.N. MOSHELL (1976)
The transport of α -tocopherol and β -carotene in human blood
J. Lipid Res. **17**, 345-352

- BONSEMBIANTE, M., I. ANDRIGHETTO e G. BITTANTE (1983a)
Beta-carotene e fertilità bovina. Ulteriori risultati sperimentali
Zoot. Nutr. Anim. 9, 199-212
- BONSEMBIANTE, M., I. ANDRIGHETTO e G. BITTANTE (1983b)
Effetto del beta-carotene sulla gravidanza e sul parto di manze
da carne e sull'allevamento dei vitelli ottenuti in confinamento
Zoot. Nutr. Anim. 9, 401-417
- BRÜGGEMANN, J. und K.-H. NIESAR (1955)
Der Nachweis eines den Vitamin A-Gehalt der Milch beeinflussenden
Faktors im Eutergewebe des Rindes
Milchwissenschaft 10, 223-225
- BRÜGGEMANN, J. und K.-H. NIESAR (1957)
Über die Beziehungen der Vitamine A und E und des β -Karotins zum
weiblichen Sexualzyklus des Rindes und Schweines unter besonderer
Berücksichtigung der Zyklussterilität
Vit. Horm. 7, 10-25
- BUDDECKE, E. (1985)
Grundriß der Biochemie
Walter de Gruyter Berlin, New York
- BURGSTALLER, G., P. MATZKE, W. HOLLWICH, J. KÖGEL, O. KREUTZBERG und
H. ZUCKER (1980)
Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und
Vitamin A. 1. Mitteilung: Einfluß auf den Blutspiegel
Zbl. Vet. Med. A 27, 485-494
- BURSTEIN, M. and P. LEGMANN (1982)
Lipoprotein precipitation
in: Monographs on atherosclerosis vol.11, Eds. T.B. CLARKSON et al.,
Karger Basel, New York
- BURSTEIN, M. et J. SAMAILLE (1957)
Sur la précipitation sélective des β -lipoprotéines du sérum par
l'héparine et les héparinoïdes de synthèse en présence du Cl_2
J. Physiol. Path. gén. 49, 83-86
- BURSTEIN, M. and H.R. SCHOLNICK (1973)
Lipoprotein-polyanion-metal interactions
Adv. Lipid Res. 11, 67-108
- CHANDA, R. (1953 a)
The partition of carotenoids and vitamin A in the colostrum and
milk of the cow and the goat
J. agric. Sci., Camb. 43, 54-71

- CHANDA, R. (1953 b)
The effect of mastitis on the carotenoids, vitamin A and phosphorus compounds of milk
Biochem. J. **54**, 68-77
- CHURCH, D.C., R. MacVICAR, J.G. BIERI, F.H. BAKER and L.S. POPE (1954)
Utilization of intravenously-administered carotene by sheep and cattle
J. Anim. Sci. **13**, 677-683
- CHYTIL, F. and D.E. ONG (1979)
Cellular retinol- and retinoic acid-binding proteins in vitamin A action
Federation Proc. **38**, 2510-2514
- CORNWELL, D.G. and F.A. KRUGER (1961)
Molecular complexes in the isolation and characterization of plasma lipoproteins
J. Lipid Res. **2**, 110-134
- CORNWELL, D.G., F.A. KRUGER and H.B. ROBINSON (1962)
Studies on the absorption of beta-carotene and the distribution of total carotenoid in human serum lipoproteins after oral administration
J. Lipid Res. **3**, 65-70
- DEUEL, H.J., JR., L.F. HALLMAN, C. JOHNSTON and F. MATTSON (1942)
The effect of a high vitamin A intake on the blood and milk carotene of Holstein and Guernsey cows
J. Nutr. **23**, 567-579
- DOST, F.H. (1968)
Grundlagen der Pharmakokinetik
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- DRUMMOND, J.C., M.E. BELL and E.T. PALMER (1935)
Observations on the absorption of carotene and vitamin A
Brit. Med. J. **1**, 1208-1212
- DUCKER, M.J., N.H. YARROW, G.A. BLOOMFIELD and J.D. EDWARDS-WEBB (1984)
The effect of β -carotene on the fertility of dairy heifers receiving maize silage
Anim. Prod. **39**, 9-16
- EG-ANALYSENKOMMISSION (1972)
Bestimmung von Retinol (Vitamin A)
Arbeitspapier Nr. 2120/VI
- EISENBERG, S. and R.I. LEVY (1975)
Lipoprotein metabolism
Adv. Lipid Res. **13**, 1-89

- EMERY, R.S. (1973)
Biosynthesis of milk fat
J. Dairy Sci. **56**, 1187-1195
- FERRERI, L.F. and R.C. ELBEIN (1982)
Fractionation of plasma triglyceride-rich lipoproteins of the dairy cow: evidence of chylomicron-size particles
J. Dairy Sci. **65**, 1912-1920
- FOLMAN, Y., I. ASCARELLI, Z. HERZ, M. ROSENBERG, M. DAVIDSON and A. HALEVI (1979)
Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of β -carotene.
Br. J. Nutr. **41**, 353-359
- FOLMAN, Y., M. ROSENBERG, I. ASCARELLI, M. KAIM and Z. HERZ (1983)
The effect of dietary and climatic factors on fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-17 β levels in dairy cows
J. Steroid Biochem. **19**, 863-868
- FRIESECKE, H. (1978)
 β -Carotin und die Fruchtbarkeit des Rindes
Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen
- GANGULY, J., S. KRISHNAMURTHY and S. MAHADEVAN (1959)
The transport of carotenoids, vitamin A and cholesterol across the intestines of rats and chickens
Biochem. J. **71**, 756-762
- GANGULY, J. and P.S. SASTRY (1985)
Mechanism of conversion of β -carotene into vitamin A- central cleavage versus random cleavage
Wld. Rev. Nutr. Diet. **45**, 198-220
- GAWIENOWSKI, A.M., M. STACEWICZ-SAPUNCAKIS and R. LONGLEY (1974)
Biosynthesis of retinal in bovine corpus luteum
J. Lipid Res. **15**, 375-379
- GERSHOFF, S.N., S.B. ANDRUS, D.M. HEGSTED and E.A. LENTINI (1957)
Vitamin A deficiency in cats
Lab. Invest. **6**, 227-240
- GLASCOCK, R.F. and V.A. WELCH (1974)
Contribution of the fatty acids of three low density serum lipoproteins to bovine milk fat
J. Dairy Sci. **57**, 1364-1370
- GLEOCKLER, D.H., L.F. FERRERI and E. FLAIM (1980)
Lipoprotein patterns in normal lactating Holstein cows bled at various times: effects of milking
Proc. Soc. exp. Biol. Med. **165**, 118-122

- GLOVER, J. and C. GREEN (1957)
Sterol metabolism 3. The distribution and transport of sterols
across the intestinal mucosa of the guinea pig
Biochem. J. **67**, 308-316
- GOLDSTEIN, J.L. and M.S. BROWN (1977)
The low-density lipoprotein pathway and its relation to
atherosclerosis
Ann. Rev. Biochem. **46**, 897-930
- GOODWIN, T.W. (1984)
The biochemistry of the carotenoids vol. II Animals
Chapman and Hall London, New York
- GOYAL, K.C., Y.K. SHARMA and U.K. MISRA (1984)
Enrichment of milk with vitamin A using provitamin A carotenoids
in the diet of goats
Nutr. Rep. Internat. **29**, 397-404
- HARTMANN, P.E., J.G. HARRIS and A.K. LASCELLES (1966)
The effect of oil-feeding and starvation on the composition
and output of lipid in thoracic duct lymph in the lactating cow
Aust. J. Biol. Sci. **19**, 635-644
- HATCH, F.T. and R.S. LEES (1968)
Practical methods for plasma lipoprotein analysis
Adv. Lipid Res. **6**, 1-68
- HEATH, T.J. and B. MORRIS (1962)
The absorption of fat in sheep and lambs
Q. J. Exp. Physiol. **47**, 157-169
- HEMKEN, R.W. and D.H. BREMEL (1982)
Possible role of beta-carotene in improving fertility in
dairy cattle
J. Dairy Sci. **65**, 1069-1073
- HOLLANDER, D. and P.E. RUBLE, JR. (1978)
β-carotene intestinal absorption: bile, fatty acid, pH, and
flow rate effects on transport
Amer. J. Physiol. **235**, E686-E691
- JENSEN, R.G. and R.E. PITAS (1976)
Milk lipoprotein lipases: a review
J. Dairy Sci. **59**, 1203-1214
- JONAS, A. (1979)
Interaction of bovine serum high density lipoprotein with mixed
vesicles of phosphatidylcholine and cholesterol
J. Lipid Res. **20**, 817-824

- KATING, H. und S.-W. BRECKLE (1978)
Pharmazeutische Biologie I
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- KISZA, J., W. ROTKIEWICZ und A. SURAZYNSKI (1966)
Über einige Veränderungen im Vitaminhaushalt (A, B₁, B₂, C und β -Carotin) in normaler und anormaler Milch
Milchwiss. **21**, 547-551
- KON, S.K., W.A. MCGILLIVRAY and S.Y. THOMPSON (1955)
Metabolism of carotene and vitamin A given by mouth or vein in oily solution or aqueous dispersion to calves, rabbits and rats
Br. J. Nutr. **9**, 244-267
- KONERMANN, H. und W. ABOU EL FADLE (1966)
Zur Bedeutung von Karotin und Vitamin A für die Darm-
erkrankungen der Saugkälber
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **73**, 543-546
- KOWALEWSKI, K., E. HENROTIN et J. VAN GEERTRUYNEN (1951)
Role des circulations porte et lymphatique dans le transport du carotène administré par voie intestinale
Acta Gastroenterol. Belg. **14**, 7-15
- KRINSKY, N.I., D.G. CORNWELL and J.L. ONCLEY (1958)
The transport of vitamin A and carotenoids in human plasma
Archs Biochem. Biophys. **73**, 233-246
- KRINSKY N.I. and S.M. DENEKE (1982)
Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids
JNCI **69**, 205-210
- KUNKEL, H.G. and A.G. BEARN (1954)
Phospholipid studies of different serum lipoproteins
employing P32
Proc. Soc. Exper. Biol. **86**, 887-891
- KURZ E., W.A. RAMBECK und H. ZUCKER (1984)
Verteilung des β -Carotins auf die Serumlipoproteine bei Milchkühen
Zbl. Vet. Med. A **31**, 174-181
- LINZELL, J.L. and M. PEAKER (1971)
Mechanism of milk secretion
Physiol. Rev. **51**, 564-597
- LOTTHAMMER, K.-H. (1978)
Zur Bedeutung des β -Carotins für die Fruchtbarkeit des Milchrindes
Tierzüchter **12**, 520-529

- LOTTHAMMER, K.-H., L. AHLWEDE und H. MEYER (1976)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
2. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und Befruchtungs-
ergebnisse (Versuch III)
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **83**, 353-358
- MARKS, J. (1986)
Vitamin safety
Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen
- MATHEWS-ROTH, M.M. (1982)
Photosensitization by porphyrins and prevention of photo-
sensitization by carotenoids
JNCI **69**, 279-285
- MATHEWS-ROTH, M.M. and C.L. GULBRANDSEN (1974)
Transport of beta-carotene in serum of individuals with carotenemia
Clin. Chem. **20**, 1578-1579
- MATHEWS-ROTH, M.M. and N.I. KRINSKY (1985)
Carotenoid dose level and protection against UV-B induced
skin tumors
Photobiochem. Photobiol. **42**, 35-38
- McBRIDE, O.W. and E.D. KORN (1963)
The lipoprotein lipase of mammary gland and the correlation
of its activity to lactation
J. Lipid Res. **4**, 17-20
- MENDELSON, C.R., O. ZINDER, E.J.B. MACKIE, S.S. CHERNICK and
R.O. SCOW (1977)
Lipoprotein lipase and lipid metabolism in mammary gland
J. Dairy Sci. **60**, 666-676
- MEYER, H., L. AHLWEDE und K.-H. LOTTHAMMER (1975)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
1. Mitteilung: Versuchsanstellung, Körperentwicklung und Eier-
stocksfunction
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **82**, 444-449
- MOORE, T. (1930)
LXXIX. Vitamin A and Carotene
VI. The conversion of carotene to vitamin A in vivo
Biochem. J. **24**, 692-702
- MOORE, J.H., R.C. NOBLE and W. STEELE (1969)
The incorporation of linolenic and linoleic acids into the plasma
lipids of sheep given intra-abomasal infusions of linseed oil,
maize oil or linoleic acid
Br. J. Nutr. **23**, 141-152

- NEWSTEAD, D.F. (1976)
Carotene and immunoglobulin concentrations in the colostrum
and milk of pasture-fed cows
J. Dairy Res. **43**, 229-237
- OCKNER, R.K. and J.A. MANNING (1974)
Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification,
isolation, and evidence for its role in cellular
fatty acid transport
J. Clin. Invest. **54**, 326-338
- OLSON, J.A. and O. HAYAISHI (1965)
The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble
enzymes of rat liver and intestine
Proc. N.A.S. **54**, 1364-1370
- ÖZPINAR, H., W. GEDEK, W.A. RAMBECK und H. ZUCKER (1984)
Einfluß der subklinischen Mastitis auf den β -Carotingehalt der
Milch bei Kühen.
Zbl. Vet. Med. A **31**, 705-711
- OWEN, E.C. (1965)
Some aspects of the metabolism of vitamin A and carotene
World Rev. Nutr. Diet. **5**, 132-208
- PACKER, J.E., J.S. MAHOOD, V.O. MORA-ARELLANO, T.F. SLATER, R.L. WILLSON
and B.S. WOLFENDEN (1981)
Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a
peroxy-radical with β -carotene, diphenyl furan and
1,4-diazobicyclo(2,2,2)-octane
Biochem. Biophys. Res. Com. **98**, 901-906
- PALMER, L.S. and C.H. ECKLES (1914)
Carotin - the principal natural yellow pigment of milk fat:
its relations to plant carotin and the carotin of body fat, corpus
luteum and blood serum. III. The yellow lipochrome of blood serum
J. Biol. Chem. **17**, 223-236
- PALMQUIST, D.L. (1976)
A kinetic concept of lipid transport in ruminants. A review
J. Dairy Sci. **59**, 355-363
- PALMQUIST, D.L. and W. MATTOS (1978)
Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary
(1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows
J. Dairy Sci. **61**, 561-565
- PATTON, S. and R.G. JENSEN (Eds) (1976)
Biomedical aspects of lactation
Pergamon Press Oxford

- PATTON, S., J.J. KELLY and T.W. KEENAN (1980)
Carotene in bovine milk fat globules: observations on origin
and high content in tissue mitochondria
Lipids **15**, 33-38
- PETO, R., R. DOLL, J.D. BUCKLEY and M.B. SPORN (1981)
Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates?
Nature **290**, 201-208
- PUPPIONE, D.L., B. RAPHAEL, R.D. MCCARTHY and P.S. DIMICK (1972)
Variations in the electrophoretic distribution of low density
lipoproteins of Holstein cows
J. Dairy Sci. **55**, 265-268
- RAJARAM, O.V., P. FATTERPAKER and A. SREENIVASAN (1974)
Involvement of binding lipoproteins in the absorption and transport
of α -tocopherol in the rat
Biochem. J. **140**, 509-516
- RAPHAEL, B.C., P.S. DIMICK and D.L. PUPPIONE (1973a)
Lipid characterization of bovine serum lipoproteins throughout
gestation and lactation
J. Dairy Sci. **56**, 1025-1032
- RAPHAEL, B.C., P.S. DIMICK and D.L. PUPPIONE (1973b)
Electrophoretic characterization of bovine serum lipoproteins
throughout gestation and lactation
J. Dairy Sci. **56**, 1411-1414
- RHODES, J. (1983)
Human interferon action: reciprocal regulation by retinoic acid
and β -carotene
JNCI **70**, 833-837
- SAACKE, R.G. and C.W. HEALD (1974)
Cytological aspects of milk formation and secretion
in: *Lactation vol. II*, Eds: B.L. Larson and V.S. Smith,
Academic Press New York, London, pp. 147-189
- SCHAMS, D., B. HOFFMANN, K.-H. LOTTHAMMER und L. AHLSEDE (1977)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige
Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes
4. Mitteilung: Auswirkung auf hormonale Parameter
während des Zyklus
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **84**, 307-310
- SCHWEIGERT, F.J. (1986)
 β -Carotin-Stoffwechsel des Rindes: Verteilung auf die Serumlipo-
proteine, Transfer in die Milch und in die Follikelflüssigkeit
sowie Funktion im Follikel
Vet. Med. Diss. Universität München

- SCHWEIGERT, F.J., A. LUTTERBACH, W.A. RAMBECK and H. ZUCKER (1986)
Vitamin A- and β -carotene concentrations in bovine follicular fluid
in relationship to follicle size
J. Vet. Med. A **33**, 360-364
- SCHWEIGERT, F.J., W.A. RAMBECK and H. ZUCKER (1987)
Transport of β -carotene by the serum lipoproteins in cattle
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (in press)
- SEIFTER, E., G. RETTURA, J. PADAWER and S.M. LEVENSON (1982)
Moloney murine sarcoma virus tumors in CBA/J mice: chemopreventive
and chemotherapeutic actions of supplemental β -carotene
JNCI **68**, 835-840
- SEIFTER, E., G. RETTURA, J. PADAWER, F. STRATFORD, J. WEINZWEIG,
A.A. DEMETRIOU and S.M. LEVENSON (1984)
Morbidity and mortality reduction by supplemental vitamin A or
 β -carotene in CBA mice given total-body γ -radiation
JNCI **73**, 1167-1177
- SKLAN, D. (1983)
Carotene cleavage activity in the corpus luteum of cattle
Internat. J. Vit. Nutr. Res. **53**, 23-26
- SOBEL, A.E., A. ROSENBERG and E. ENGEL (1952)
Intravenous injection of fat-soluble vitamins and transfer to milk
of injected vitamin A
J. Dairy Sci. **48**, 183-192
- STAMPFER, R. und H. ZUCKER (1983)
Untersuchungen zur Beziehung zwischen β -Carotin im Blut und
in der Milch bei Kühen
Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. **49**, 140-147
- STEAD, D., M. TAMIR and V.A. WELCH (1978)
Interrelationship between apoproteins of very low density
lipoprotein and other serum lipoproteins in lactating goats
J. Dairy Sci. **61** 1529-1536
- STEAD, D. and V.A. WELCH (1975)
Lipid composition of bovine serum lipoproteins
J. Dairy Sci. **58**, 122-127
- STORRY, J.E., P.E. BRUMBY, B. TUCKLEY, V.A. WELCH, D. STEAD and
R.J. FULFORD (1980)
Effect of feeding protected lipid to dairy cows in early
lactation on the composition of blood lipoproteins and
secretion of fatty acids in milk
J. agric. Sci., Camb. **94**, 503-516

- SUTTON, T.S. and P.A. SOLDNER (1945)
Seasonal variations in the blood plasma carotene and vitamin A
of adult dairy cattle
J. Dairy Sci. 28, 859-867
- THOMPSON, S.Y. (1961)
The role of carotene in the dairy cow
in: Carotine und Carotinoide, Ed. K. LANG,
Steinkopff Verlag Darmstadt, pp. 263-281
- TIEWS, J. (1958)
Die fettlöslichen Vitamine der Milch
Zuchthygiene 2, 323-328
- TIEWS, J. (1961)
Vitamin A-Wirksamkeit der Carotine bei verschiedenen Tierarten
in: Carotine und Carotinoide, Ed. K. LANG,
Steinkopff Verlag Darmstadt, pp. 235-262
- TIEWS, J. und C. ZENTZ (1967)
Die Mikrobestimmung von Vitamin A im Blutserum und Leberpunktaten
mit FeCl₃ in Acetylchlorid
Int. Ztschr. f. Vit. Forschung 37, 307-314
- ULLREY, D.E. (1972)
Biological availability of fat-soluble vitamins: vitamin A and
carotene
J. Anim. Sci. 35, 648-657
- VAHLQUIST, A. and S. NILSSON (1979)
Mechanisms for vitamin A transfer from blood to milk in rhesus monkeys
J. Nutr. 109, 1456-1463
- WEST, C.E., R. BICKERSTAFFE, E.F. ANNISON and J.L. LINZELL (1972)
Studies on the mode of uptake of blood triglycerides by the
mammary gland of the lactating goat
Biochem. J. 126, 477-490
- WOLF, G. (1984)
Multiple functions of vitamin A
Physiol. Rev. 64, 873-937
- ZEROBIN, K. (1976)
Physiologie der Milchsekretion
in: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, Eds: A. Scheunert und
A. Trautmann, Verlag Paul Parey Berlin, Hamburg, pp. 769-793
- ZUCKER, H., O. KREUTZBERG, W. HOLLWICH, D. MATZKE, J. KÜGEL und
G. BURGSTALLER (1980)
Untersuchungen zur Versorgung von Milchkühen mit β -Carotin und
Vitamin A. 2. Mitteilung: Einfluß auf Konzentration in der Milch
sowie klinisch-gynäkologische und hormonanalytische Befunde
Zbl. Vet. Med. A 27, 525-533

Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. F.J. Schweigert möchte ich mich für die geduldige technische Anleitung und seine Hilfsbereitschaft, sowie für zahlreiche theoretische Anregungen besonders bedanken.

Herrn Dr. Dr. habil. W.A. Rambeck danke ich dafür, daß er für Probleme aller Art stets als Ansprechpartner zur Verfügung stand.

Auch das ausgezeichnete Arbeitsklima im Vitaminlabor von Prof. Zucker hat viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Den Mitarbeitern, allen voran Frau A. Wetzel, gilt hierfür und für die praktische Unterstützung mein Dank.

Für Beratung und auch tatkräftige Unterstützung danke ich Herrn Prof. Dr. J. Meyer.

Herrn J. Widmann gilt mein Dank für seine zuverlässige Hilfe bei der Versuchsdurchführung.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Drepper und seinen Mitarbeitern danke ich für die freundliche Aufnahme und gute Zusammenarbeit.

Ferner gilt mein Dank der Firma Hipp in Pfaffenhofen für die Möglichkeit, in ihrem Betrieb Proben zu nehmen und natürlich der Firma BASF, Ludwigshafen, für die Bereitstellung ihres Injektionspräparates für die Versuche.

Nicht zuletzt möchte ich mich herzlichst bei meiner Frau bedanken, ohne deren Mithilfe mir die Durchführung einiger Versuche unmöglich gewesen wäre. Ihre Unterstützung war wesentlich für das Gelingen dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Wolfgang Eisele	geb. am 7. August 1959 in Kempten
Eltern	Hubert Eisele, Schreinermeister, und Johanna Eisele, geb. Gronmayer
Schulbildung	1965 - 69 Grundschule Kreuzthal 1969 - 78 Carl-von-Linde-Gymnasium Kempten
Abitur	29. Juni 1978 anschließende Mitarbeit im elterlichen Betrieb
Studium	1979 - 84 an der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München
Staatsexamen	6. November 1984
Approbation	8. Februar 1985
Berufstätigkeit	August 1985 - Januar 1986 wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tiermedizinischen Fakultät München
Heirat	31.7.1986 mit Constanze Berninger, Tierärztin

